

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2003年1月9日 (09.01.2003)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 03/002466 A1

(51) 国際特許分類⁷: C02F 1/70, 1/30, 1/32, B08B 3/08, H01L 21/304, C12N 9/08

(21) 国際出願番号: PCT/JP02/06560

(22) 国際出願日: 2002年6月28日 (28.06.2002)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2001-200001 2001年6月29日 (29.06.2001) JP
特願2002-32845 2002年2月8日 (08.02.2002) JP
特願2002-125986 2002年4月26日 (26.04.2002) JP

(71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): ミズ株式会社 (MIZ CO., LTD.) [JP/JP]; 〒251-0871 神奈川県藤沢市 善行一丁目 16番 5号 Kanagawa (JP).

(72) 発明者; および
(75) 発明者/出願人(米国についてのみ): 柳原 紀之 (YANAGIHARA, Tomoyuki) [JP/JP]; 〒251-0871 神奈川県藤沢市 善行一丁目 16番 5号 ミズ株式会社内 Kanagawa (JP). 佐藤 文平 (SATOH, Bunpei) [JP/JP]; 〒251-0871 神奈川県藤沢市 善行一丁目 16番 5号 ミズ株式会社内 Kanagawa (JP). 首藤 達哉 (SHUDO, Tatsuya) [JP/JP]; 〒251-0871 神奈川県 藤沢市 善行一丁目 16番 5号 ミズ株式会社内 Kanagawa (JP).

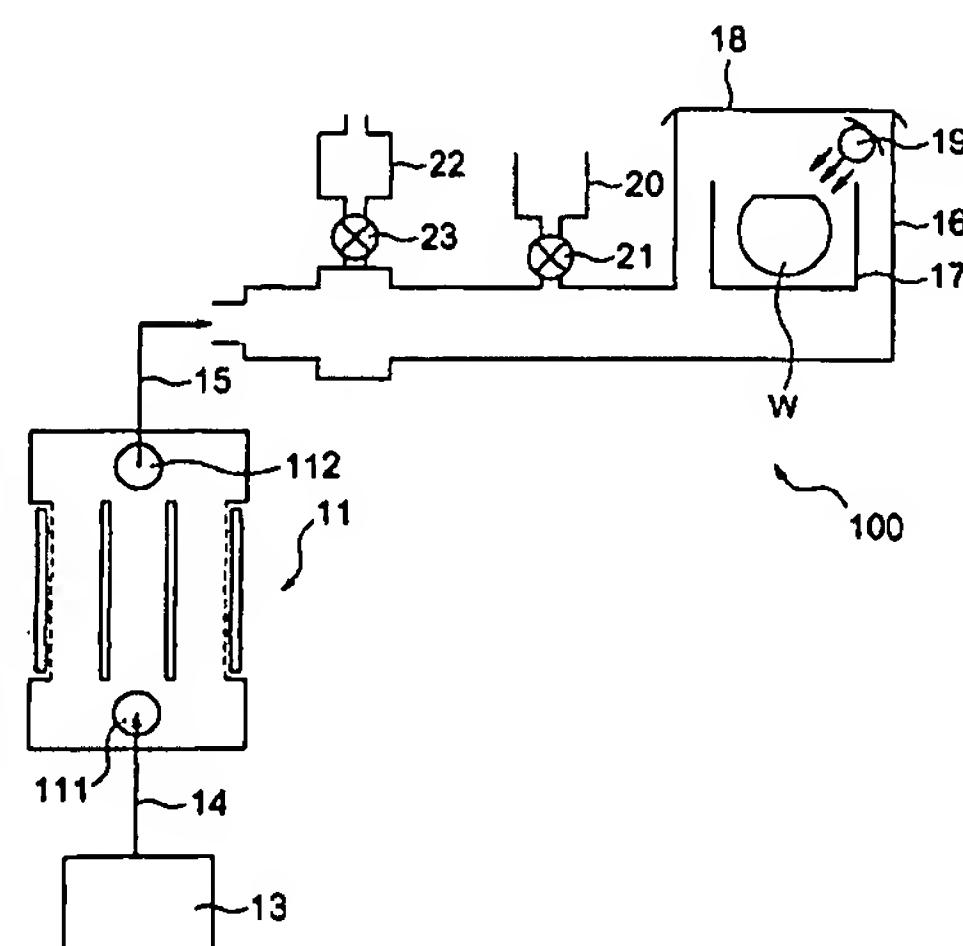
(74) 代理人: 前田 均, 外 (MAEDA, Hitoshi et al.); 〒101-0064 東京都 千代田区 猿楽町 2丁目 1番 1号 桐山ビル 2階 前田・西出國際特許事務所 Tokyo (JP).

(81) 指定国(国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO,

[続葉有]

(54) Title: METHOD FOR ANTIOXIDATION AND ANTIOXIDATIVE FUNCTIONAL WATER

(54) 発明の名称: 抗酸化方法、および抗酸化機能水



(57) Abstract: A method for antioxidation, characterized in that it comprises accelerating a reaction which decomposes molecular hydrogen contained in a dissolved hydrogen-containing water as a substrate into active hydrogen as a product through a process of reacting the dissolved hydrogen-containing water with a catalyst, to thereby convert a material in an oxidized state due to the deficiency of electrons to that in a reduced state having sufficient electrons and/or maintain a material to be prevented from being oxidized in a reduced state.

(57) 要約:

水素溶存水に触媒を作用させる過程を通じて、該水素溶存水中に含まれる基質としての分子状水素を、生成物としての活性水素に分解する反応を促進させることにより、電子の欠乏に起因して酸化状態にあるか、または酸化から防御したい抗酸化対象を、電子が充足された還元状態に改善及び/又は維持する。

WO 03/002466 A1

WO 03/002466 A1

NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL,
TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA,
ZM, ZW.

(84) 指定国(広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW,
MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許
(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特
許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,
LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG,
CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:
— 國際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される
各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語
のガイダンスノート」を参照。

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

明細書

抗酸化方法、および抗酸化機能水

技術分野

本発明は、水素溶存水に触媒を作用させる過程を通じて、該水素溶存水中に含まれる基質としての分子状水素を、生成物としての活性水素に分解する反応を促進させることにより、電子の欠乏に起因して酸化状態にあるか、または酸化から防御したい抗酸化対象を、電子が充足された還元状態にすることができる抗酸化方法、および抗酸化機能水に関する。

背景技術

たとえば生体にとって酸素は両刃の剣である。酸素は栄養素を酸化してエネルギーを獲得する目的で、または、生体にとって必須な各種の酸素添加反応を行う目的で用いられる一方で、その酸化力に由来して各種組織障害を引き起こす危険を伴うことが指摘されている。

特に代謝により生成されるスーパーオキサイドと呼ばれる活性酸素は、鉄や銅などの金属触媒により還元されて過酸化水素となり、さらに反応性が高いヒドロキシラジカルとなって、タンパク質を変性させ、DNAの鎖を切断し、または、脂質を酸化することで老化促進因子とされる過酸化脂質を生成することが知られている。

こうした毒性をもつ活性酸素は、通常は生体内でSOD（スーパーオキシドディスクターゼ）と呼ばれる酵素により消去される。

ところが、ストレスや飲酒、喫煙、激しい運動、高齢化などの諸要因によって生体のバランスが崩れると、SODが減少し、活性酸素によって過酸化脂質が増加して、心筋梗塞、動脈硬化、糖尿病、癌、脳卒中、白内障、肩こり、冷え性、高血圧、及び老人性痴呆症等の各種疾病を招来したり、シミ、ソバカス、しわ等が生じるなどといった問題が指摘されている。

こうした活性酸素由来の各種疾病等を改善する物質として、BHA（ブチルヒドロキシアニソール）、BHT（ブチルヒドロキシトルエン）、 α -トコフェロール、アスコルビン酸、システイン、グルタチオンなどの抗酸化剤や活性酸素消

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

去剤が知られている。

しかしながら、こうした抗酸化剤等は化学的合成品であることから、これらを多量に常用した場合には人体に対する安全性に疑問が残るという問題がある。また、これらの抗酸化剤等は相手方を還元する過程を通じて自身が酸化されることとなるが、こうした副生成酸化物の人体に対する安全性が懸念されるという問題もある。

そこで、従来の抗酸化剤等と同等またはそれ以上の優れた抗酸化能や活性酸素消去能を発揮しながら、人体への安全性を高い水準で期せる革新技術の開発が待望されていた。

その一方で、工業廃棄物、医薬廃棄物や工業排水等が地球環境へ放出されてきた結果として、地球規模での環境問題が近年クローズアップされてきている。

たとえば工業製品や医薬製品を製造するプロセスにおいて、洗浄、エッチング、後処理等を行う場合、塩素等のハロゲンやフロンを含む溶液、塩酸等の酸性溶液やアルカリ溶液、または、ハロゲンやフロンを含むガスを用いての処理が行われている。具体的には、たとえば半導体基板のうち特にシリコン基板の洗浄分野にあっては、純水、または、純水と塩酸、弗酸、硫酸、硝酸、過酸化水素、アンモニア水、有機アルカリ等の酸・アルカリを混合した溶液を用いてシリコン基板の表面処理が行われている。

しかしながら、こうした薬液等を用いて洗浄等の処理を行う場合には、ハロゲン化合物やフロン化合物等が生成され、処理が難しい産業廃棄物を生み出し、これら難処理産業廃棄物が地球環境に排出される結果として、環境負荷を増大させるという問題がある。

そこで、従来の薬液等を用いた処理と同等またはそれ以上の洗浄等の処理効果を維持しながら、薬液等の不使用ないし使用量の大幅な低減により達せられる環境負荷低減を高い水準で期せる革新技術の開発が久しく待ち望まれていた。

本発明は、こうした課題を解決するためになされたものであり、水素溶存水に触媒を作用させる過程を通じて、該水素溶存水中に含まれる基質としての分子状水素を、生成物としての活性水素に分解する反応を促進させることにより、電子

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

の欠乏に起因して酸化状態にあるか、または酸化から防御したい抗酸化対象を、電子が充足された還元状態にし、これをもって、人体への安全性や環境負荷低減を高い水準で期せる抗酸化方法、および抗酸化機能水を提供することを目的とする。

発明の開示

本発明の概要説明に先立って、本発明者らが本発明を想到するにいたった経緯について説明する。

(1) 本発明の思考経緯

本願出願人は、先に出願しすでに公開され、この引用によって本願発明にその記載内容が取り込まれる再公表特許WO 99/10286号において、水素イオン指数（以下、「pH」と称する。）と酸化還元電位（以下、「ORP」と称する。）とを互いに独立して制御できる電解槽および電解水生成装置を開示している。同出願の概要は以下に示す通りである。すなわち、原水が導入される電解室と、前記電解室内と前記電解室外とのそれぞれに隔膜を挟んで設けられた少なくとも一対の電極板と、を有し、前記電解室外（開放系）の電極板が前記隔膜に接触または僅かな隙間を介して設けられており、前記電解室内に設けられた電極板を陰極とする一方で前記電解室外に設けられた電極板を陽極として両極間に電圧を印加する電源回路と、を備えた電解槽および還元電位水生成装置である。同装置における陰極側には、原水のpHを大きく変えることなく、ORPが大きく負の値に引き下げられた電解還元電位水（以下、「還元電位水」という場合がある。）が生成される。以下では、特にことわらない限り、「電解処理」とは、上述の還元電位水生成装置を用いて毎分1リットルの流速で5A定電流の電解条件にて連続通水式に電解処理することをいう。

本発明者らは、上述の還元電位水生成装置で生成される還元電位水の性能評価試験を通じて、本発明を想到するに至ったのである。

ここで、還元電位水とは、ORPが負の値を持ち、なおかつ、pHに対応するORP値が所定値を超える値を示すものである。ORP値が所定値を超えるか否かは、次のネルンストの式（近似式）から判断する。

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

$$ORP = -59 \text{ pH} - 80 \text{ (mV)} \dots \text{(ネルンストの式)}$$

この式は、図1に示すように、pHとORPとが比例関係（pHがアルカリ側に傾くほどORP値は負に傾く）にあることを示している。ここで、pHに対応するORP値が所定値を超える値を示すとは、ORP値が上記ネルンストの式にしたがう値を下回ることをいう。ここでは、こうした条件を満足する水を還元電位水と呼ぶことにする。たとえば、上記のネルンストの式にpH7を代入すると、ORPは-493(mV)程度になる。つまり、pH7ではORPが-493(mV)程度以下の水が還元電位水に相当することになる。ただし、ここで定義した還元電位水の範疇に属するもののなかでも、溶存水素濃度の多少の差が厳然として存在するが、これについては、その溶存水素濃度の定量分析方法と併せて後に詳述する。

さて、還元電位水にはエネルギーの高い電子が相当量含まれている。これは、ORP計で測定すれば明らかである。ORPとは、被測定液に含まれる酸化物質と還元物質の存在比率を示す指標であって、その単位は一般にミリボルト(mV)を用いる。一般にORP計では、測定用の電極が負に帯電すると負のORP値が観測され、逆に測定用の電極が正に帯電すると正のORP値が観測される。ここで、測定用の電極が負に帯電するためには、被測定液にエネルギーの高い電子が含まれている必要がある。したがって、ORP値が負の絶対値が大きい値を示すということは、必然的に、被測定液にはエネルギーの高い電子が含まれている、ということができる。

ここで、還元電位水中にエネルギーの高い電子がどの程度含まれているかの性能評価を行うために、発光ダイオード（以下、「LED」と省略する。）を用いた点灯試験を行った。これは、電池の原理を用いたものである。具体的には、白金などの電極201と隔膜203とを交互に備え、陰極室205と陽極室207をそれぞれ三室程度有する試験用セル209において、陰極室には例えばORPが-600(mV)程度の還元電位水を、陽極室には例えばORPが+400(mV)程度の水道水をそれぞれ投入し、陰極室205に接触する電極にはLED211のマイナス側端子を、陽極室にはLED211のプラス側端子を接続すると、

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

LED 211の持続的な点灯が観察された。このことは、LED 211を介して、セル209の陽極から陰極に向けて電流が流れていることを意味し、さらにいえば、電流が流れているとは、電子が流れていることを意味する。このとき、LED 211を流れる電子はセル209の陰極から陽極に流れることを考慮すると、還元電位水中にはエネルギーの高い電子群が確かに含まれていることが実験的に定性評価された。

参考例として、上記のセル209において、陰極室には市販の電解水生成装置で生成したアルカリ性電解水（例えばORPは-50mV程度）や天然のミネラルウォーターなどを、陽極室には水道水をそれぞれ投入し、上述と同様に、陰極室の電極にはLEDのマイナス側端子を、陽極室にはLEDのプラス側端子を接続すると、この場合にはLEDの点灯は観察されなかった。これは、既存のアルカリ性電解水や天然のミネラルウォーターには、LEDを点灯させ得るほどのエネルギーの高い電子群が含まれていないからであると考えられる。

また、市販の電解水生成装置において、流量を絞ってORP値を大きく負の方へ移動させたとしても、上記のネルンストの式にしたがって、そのときのpH値におけるORP値の絶対値が小さければ、やはりLEDの点灯は観察されない。これは、たとえば、市販の電解水生成装置において、流量を絞った結果、pHが10程度でORP値が-500~-600(mV)であっても、pH値のわりにはORP値は小さいことになるので、電子エネルギー的には弱く、上記のネルンストの式において、pH値が10程度であればORP値は少なくとも-670(mV)程度以下に引き下げられていなければ、LEDを点灯させることはできないのであろうと考えられる。

また、LEDにもいくつか種類があるが、上述したような各室が交互に三層構造で配置されたセル209を用いた場合、還元電位水では、3V以上程度の高い端子間電圧を要求するブルーやグリーンなどの呈色を示すダイオードの継続点灯が観察された。

そこで、還元電位水中にエネルギーの高い電子が含まれていることの、産業利用性について鋭意研究を進めてきたところ、還元電位水は「潜在的な還元力」を

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

持っているのではないか、とのヒントを得た。特に、LEDを点灯させることができるとO R P 値がかなり負の値に傾いていることから、還元電位水は相当強力な還元力を持っており、この還元力をうまく引き出すことができれば、医療、工業、食品、農業、自動車、エネルギーなどを含む、広範な産業分野に利用できるのではないか、と確信するに至った。

ここで、「潜在的な還元力」とは、どのような状態にあるのかを説明する。

たとえば、水道水などのふつうの水にビタミンC（アスコルビン酸）などの還元剤を加えた後、さらに酸化剤を添加すると、還元剤は直ちに酸化剤を還元する。一方、還元電位水に酸化剤を加えても、酸化剤を直ちに還元することはない。このときの状態は、還元電位水の負の方に大きいO R P 値はそのままで、なおかつ酸化剤もそのままの状態を保持し、両者が共存している状態にあると考えられる。この時点では、まだ還元力は発揮されていない。

つまり、還元電位水中に、いかにエネルギーの高い電子が存在していようと、換言すれば、いかにO R P が大きい負の値を持っていようと、還元電位水から直ちに電子が放電して酸化剤を還元する、という反応は起こらないという事実に直面した。そこで、還元電位水中に含まれる電子エネルギーの大きさと、電子の放電しやすさ、つまり還元力の発揮とは、別問題であろうと考えた。

では、還元電位水が還元力を発揮するにはどうすればよいであろうか。この命題について、本発明者らはさらに鋭意研究を進めたところ、何らかの触媒を作用させてはどうか、とのひらめきを得るに至った。一口に触媒といっても様々な種類のものがあるが、特に、たとえば生体に適用する前提では、なんらかの酵素、または、後述する貴金属コロイドを触媒として用いることができるのではないか、との着想を得るに至ったのである。

ここで、特に酵素について言及すると、酵素作用の本質は化学反応の触媒であり、酵素の活性は触媒する反応の速さで測る。 $A \rightarrow B$ という反応を触媒する場合、Aは基質であり、Bは生成物である。これを本発明のケースに当てはめると、水素溶存水中に含まれる分子状水素が基質に相当する一方、活性水素が生成物に相当することになる。そして、こうした酵素がはたらく作用機序は次のように説明

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

できると考えた。

いま、還元電位水中に含まれる高いエネルギーを持つ電子群が酸化剤にめぐり合い、この酸化剤を還元する必要があるとする。還元電位水中に含まれる電子群が酸化剤まで移動するには、これら電子群が、まず越えなければならないエネルギーの壁が存在する。このエネルギーの壁のことを「ポテンシャル障壁」とか「活性化エネルギー」などと一般に称する。このエネルギーが高いほど、越えなければならない壁の高さも高いことになる。そして、この壁の高さで言い表せるエネルギーは、電子群が持つエネルギーよりも大きいので、通常では電子群はこの壁を越えられず、結果的に酸化剤まで移動できない。つまり、酸化剤を還元できないのであろうと考えた。

ところが、たとえば酵素のような触媒が作用すると、壁の高さに相当する活性化エネルギーを低下させることができるので、この結果、還元電位水中に含まれる電子群は、触媒がない場合と比較してかなりスムーズに酸化剤まで移動できることになり、この移動が完了した時点で、還元電位水は酸化剤を還元できることになる。

このように、酵素などの触媒が作用したときに、還元電位水中に含まれる、エネルギーの高い電子群は放電しやすくなり、結果的に還元力を発揮することができるわけである。すなわち、これが還元電位水は「潜在的な還元力を持つ」ということであり、このことは、表現を変えれば「還元電位水が持つ還元力は封印されている」といえる。こうした様々な思考過程を経て、「還元電位水が持つ還元力の封印を解く鍵が触媒である」との発想を得るに至ったのである。

本発明の思考経緯を明らかにしたところで、本発明の概要について説明する。

(2) 本発明の概要

抗酸化方法

本発明によれば、水素溶存水に触媒を作用させる過程を通じて、該水素溶存水中に含まれる基質としての分子状水素を、生成物としての活性水素に分解（活性化）する反応を促進させることにより、電子の欠乏に起因して酸化状態にあるか、または酸化から防御したい抗酸化対象を、電子が充足された還元状態にすること

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

を特徴とする抗酸化方法が提供される。

本発明者らは、電解処理水や水素バーリング水などの水素溶存水のO R P 値が負の値を呈するその本質は、同水中に溶存している水素であるとの確信を得ている。水素は究極の還元物質であること、さらには、電解処理中において陰極側には水素が発生する事実が、上述した確信を裏付けている。

しかしながら、本発明の思考経緯において明らかにしたように、水素溶存水そのままでは本来の還元力は封印されたままである。

そこで、水素溶存水が持つ還元力の封印を解き放つためには、本発明に係る抗酸化方法で定義したように、水素溶存水に触媒を作用させる過程がきわめて重要であることを見出した。

もうひとつの重要な要素は抗酸化対象の存在である。抗酸化対象が存在しなければ、本発明に係る抗酸化作用を發揮する場面がないからである。

つまり、本発明において重要な要素は、第一に水素溶存水、第二に触媒、そして第三に抗酸化対象である。これらの三要素が有機的に結合されてはじめて、水素が潜在的に持つ還元力の封印が解き放たれて、還元機能をも含む広義の抗酸化機能が顕在的に発現される。なお、本発明でいう抗酸化機能の発現とは、電子の欠乏に起因して酸化状態にあるか、または酸化から防御したい抗酸化対象を、電子が充足された還元状態にすることをいう。ここでの還元力の大きさは、O R P 値の状態等（O R P 計測値の安定性や、上述したネルンストの式との関係など）で一応推定することができるが、究極的には、後に詳述する酸化還元色素を用いた溶存水素濃度定量方法を用いて求めた溶存水素濃度D H の実効値に依存して決定される。

次に、これらの三要素について、本発明に属すると想定している技術的範囲の射程に言及する。

水素溶存水

水素溶存水とは、水素を含有している水全般を想定している。また、ここでいう水（原水という場合もある。）とは、水道水、精製水、蒸留水、天然水、活性炭処理水、イオン交換水、純水、超純水、市販のペットボトル水、後述する生体

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

水、水中で化学反応により分子状水素を発生させた水など、すべての水を含む。さらに、こうした水に電解助剤や後述する還元剤を加えた水全般をも、本発明の技術的範囲の射程に捉えている。さらにいえば、水素を含有している水であるという条件さえ満足すれば、その液性が酸性か、中性か、またはアルカリ性かの別を問わず、また、その溶存濃度の高低をも、原則として問わない。ただし、本発明を適用することで発現する抗酸化機能は、触媒を介して分子状水素を活性水素に置換する過程で放出される電子に由来しているので、分子状水素の溶存濃度が高いほうが、より大きい抗酸化機能の発現を期することができる。

さらに、水素溶存水とは、隔膜を介して陽極と陰極間で原水を電解処理したときに陰極側で生成されるアルカリ性電解水、または、原水に水素をバーリング(曝気)ないし加圧充填などして処理した水をも含む。かかる定義をしたのは、既存の連續通水式又はバッチ式の電解水生成器で生成したいわゆるアルカリイオン水や、外部操作によって原水に水素を含有させて生成される水素溶存水をも、本発明の技術的範囲の射程に捉えていることを明らかにする趣旨である。ここで水素溶存水として列挙したものはあくまで例示に過ぎず、これらのみに拘泥する趣旨ではない。したがって、たとえ天然水であってもそのなかに水素が含有されていれば、そうした水をも本発明の技術的範囲の射程から除外する趣旨ではないことを明らかにしておく。

また、例えば生体の血液やリンパ液などの体液(生体水という場合がある。)内には、腸内微生物、特に、ヒドロゲナーゼを有する微生物が生成したものと推察される分子状水素が溶存しているが、本発明で言う水素溶存水とは、その由来を問わずに分子状水素を溶存している生体水をも、その技術的範囲の射程に捉えている。なお、生体内における分子状水素の所在は腸内にとどまらず、腸管から吸収されて血液中にも分布しており、血流にのった分子状水素は、特に肝臓や腎臓等の各内臓器官などに送られて、生体内の各部位に貯蔵されていると考えられる。この場合、生体内に存在している分子状水素を還元剤として利用するために、ヒドロゲナーゼなどの酵素、または、後述する貴金属コロイドを生体内に投与することで、分子状水素の活性化を促進すればよい。

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

しかも、水素溶存水とは、O R Pが負の値を持ち、かつ、p Hに対応するO R P値が、ネルンストの式； $O R P = -59 p H - 80$ (mV)にしたがう値を下回る値を示す還元電位水をも含む。ここでいう還元電位水とは、本願出願人が開発した還元電位水生成装置（以下、単に「還元電位水生成装置」という。）で生成した水を含むのは当然として、それ以外の装置で生成した水であって、上述した還元電位水としての条件を満たす水を除外する趣旨ではないことを明らかにしておく。なお、還元電位水生成装置において、いったん生成した水を再び電解槽へと還流させるように導き、以下この還流工程を所定時間だけ繰り返すといった循環電解処理技術を採用した場合には、後述する表1等に示すように、溶存水素濃度が高くO R P値がさらに低い還元電位水が得られ、そうした還元電位水では優れた還元力（抗酸化力）を発揮し得ることを付言しておく。

さてここで、本発明者らが想定している水素溶存水の参考例と、水素を溶存していない水の比較例と、のそれに係る各種物性値を挙げておく。比較のための対象水としては、藤沢市水道水を活性炭カラムに通して処理した活性炭処理水、藤沢市水道水をオルガノ社製イオン交換カラムに通して処理したオルガノ精製水、そして、ペットボトル水の一例として、カルピス伊藤忠ミネラルウォーター（株）より日本国内に供給されている「evian」(S.A.des Eaux Minrales d' Evianの登録商標)を例示している。こうした比較対象水に水素を溶存させるための各種処理後の水素溶存水としては、本願出願人が開発した還元電位水生成装置にて、毎分1リットルの流速で5 A定電流の電解条件を用いて連続式電解処理を行った第1の還元電位水と、同装置にて同一の電解条件（循環水量は2リットル）を用いて連続式循環電解処理を30分間行った第2の還元電位水と、各種比較対象水に対して水素ガスのバーリング処理を30分間行った水素ガスバーリング水と、ミズ株式会社製電解水生成装置「ミニウォーター」にて標準水量で電解レンジ「4」の電解条件を用いて連続式電解処理を行ったアルカリ性電解水と、を例示している。

また、こうした水がもつ各種物性値としては、p H、酸化還元電位O R P (m V)、電気伝導度E C (m S / m)、溶存酸素濃度D O (mg / L)、溶存水素

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

濃度DH (mg/L)、水温T (°C)を挙げている。また、これらの各種物性値を計測するのに用いた各種計器類としては、pHメーター（温度計含む）は株式会社堀場製作所製の、pHメータ一本体の型式『D-13』、同プローブの型式『9620-10D』であり、ORPメーターは株式会社堀場製作所製の、ORPメータ一本体の型式『D-25』、同プローブの型式『9300-10D』であり、ECメーターは株式会社堀場製作所製の、ECメータ一本体の型式『D-24』、同プローブの型式『9382-10D』であり、DOメーターは株式会社堀場製作所製の、DOメータ一本体の型式『D-25』、同プローブの型式『9520-10D』であり、DHメーター（溶存水素計）は東亜ディーケーヶ一株式会社製の、本体型式『DHDI-1』、同電極（プローブ）型式『HE-5321』、同中継器型式『DHM-F2』であり、こうした各種計器類を用いて、比較対象水がもつ各種物性値をそれぞれ計測した。

(以下余白)

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

表1

各種水の基礎データ

水素を含有しない各種水の物性値	pH	ORP[mV]	EC[mS/m]	DO[mg/L]	DH[mg/L]	T[°C]
活性炭処理水	7.31	308	16.15	8.65	0.000	22.2
オルガノ精製水	6.00	395	0.11	4.52	0.000	23.3
evian(冷蔵保存)	7.30	407	56.30	9.76	0.000	12.5
1回電解時の物性値	pH	ORP[mV]	EC[mS/m]	DO[mg/L]	DH[mg/L]	T[°C]
活性炭処理水	9.54	-735	22.30	3.22	0.900	27.5
オルガノ精製水(not 5A)	10.48	-760	5.60	4.45	0.425	24.2
evian(冷蔵保存)	7.48	-530	56.10	5.25	0.460	15.7
循環電解(30分)時の物性値	pH	ORP[mV]	EC[mS/m]	DO[mg/L]	DH[mg/L]	T[°C]
活性炭処理水	11.00	-850	42.80	1.76	1.332	25.8
オルガノ精製水(not 5A)	11.15	-850	52.30	0.94	1.374	31.9
evian(冷蔵保存)	7.72	-635	45.10	1.46	1.157	24.2
水素ガスバーリング(30分)時の物性値	pH	ORP[mV]	EC[mS/m]	DO[mg/L]	DH[mg/L]	T[°C]
活性炭処理水	8.30	-585	17.97	1.67	1.070	23.6
オルガノ精製水	6.40	-550	0.22	1.75	1.090	23.4
evian(冷蔵保存)	8.25	-765	50.7	2.59	0.89	21.3
活性炭処理水(by NaOH)	11.00	-836	33.50	1.55	0.910	20.9
電解水生成器にて電解時の物性値	pH	ORP[mV]	EC[mS/m]	DO[mg/L]	DH[mg/L]	T[°C]
アルカリ性電解水(標準装備活性炭処理)	9.34	60	14.78	8.00	0.163	20.7

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

この表1によれば、溶存水素計で計測した溶存水素濃度(DH)に注目したとき、還元電位水生成装置を用いて1回電解処理した第1の還元電位水では、電解処理した水を即時に取り出せるにもかかわらず、そのなかには0.425~0.900(mg/L)もの高濃度の水素を溶存させることができることがわかる。

また、処理時間をたとえば30分間とした場合において、本還元電位水生成装置における循環電解還元電位水(第2の還元電位水)と、水素ガスバーリング水との溶存水素濃度を比較したとき、後者では0.89~1.090(mg/L)であるのに対し、前者では1.157~1.374(mg/L)もの高濃度の水素を溶存させることができることがわかった。

ところで、水素溶存水中には、亜硫酸塩、チオ硫酸塩、アスコルビン酸、アスコルビン酸塩を含む群から選択される少なくとも1つの還元剤が、必要に応じて添加されているのが好ましい。触媒作用により生じた活性水素の溶存酸素による速やかな酸化を予防する必要がある際には、水素溶存水中の溶存酸素濃度をできるだけ少なくしておくことが好ましいからである。

これについてさらに説明すれば、触媒を作用させた水素溶存水に、溶存酸素をちょうど還元できる化学当量には及ばない量だけの還元剤を加えた場合には、溶存酸素濃度DO(mg/L)をほとんど0(mg/L)にまで下げることができる。

このときの比較例として、触媒を作用させていない水素溶存水に同様の量の還元剤を加えたものでは、溶存酸素濃度DO(mg/L)を大きく引き下げるまでには至らない。これは、封印が解き放たれた水素溶存水のもつ本来的な還元力が、還元剤がもつ還元力をより強く引き出した結果であると考えられる。

したがって、本発明に係る抗酸化機能水を還元剤や水溶性ビタミンなどの添加物とともに共存させた状態でボトル詰めした場合には、こうした添加物は抗酸化環境下におかれる結果として、添加物が本来的にもつ抗酸化作用をさらに強く引き出せるという側面もあることを付言しておく。これは、本発明に係る抗酸化機能水を、例えば還元型アスコルビン酸とともに共存させさせた状態でボトル詰めした場合には、かかるアスコルビン酸は抗酸化環境下におかれるため還元型であ

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

り続ける結果として、還元型アスコルビン酸が本来的にもつ抗酸化作用をさらに強く引き出せることを意味する。この場合には、例えば還元型アスコルビン酸などの還元剤を、共存系内の溶存酸素等の酸化物を還元中和してなお有り余る量だけ添加することが好ましい。ただし、アスコルビン酸の添加量は、抗酸化機能水が呈するpHや、1日当たりに摂取すべく推奨されている下限量などを考慮して、適宜の量を添加することが好ましい。

触媒

触媒とは、前記水素溶存水中に含まれる基質としての分子状水素を、生成物としての活性水素に分解する反応を触媒する機能を有するもの全般を想定している。すなわち、本発明に係る触媒機能の本質は、分子状水素の活性化を円滑に促進することにあるが、その機能の中には、分子状水素から電子を受け取る（ひとつの分子状水素を活性化することで2個の電子が得られる； $H_2 \rightarrow 2e^- + 2H^+$ ）こと、並びに、受け取った電子を一旦プール（触媒への吸着や吸蔵の概念を含む）した後、又はプールすることなく抗酸化対象に供与すること、が含まれる。本発明に係る触媒としては、たとえば、水素酸化還元酵素、さらに言えばヒドロゲナーゼ、次述する貴金属コロイド、または、可視光線、紫外線、電子線を含む群から選択される少なくとも1つの電磁波などを、技術的範囲の射程に捉えている。なお、本発明で想定している貴金属コロイドとは、白金、パラジウム、ロジウム、イリジウム、ルテニウム、金、銀、レニウム、並びにこれら貴金属元素の塩、合金化合物、錯体化合物などのコロイド粒子それ自体、さらにはこれらの混合物を含む概念である。かかる貴金属コロイドを製造又は使用するにあたっては、本引用によりその記載内容が本願発明に取り込まれる、難波征太郎、大倉一郎の両氏による「Ptコロイドの作り方と使い方」、表面Vol.21 No.8(1983)の記載内容を参照すればよい。また、本発明でいうコロイドとは、一般にコロイドとしての本質的な挙動を示すと言われている、直径1nm～0.5μmの範囲の粒子を想定している。ただし、例えば貴金属コロイドとしてPtコロイドを採用したときの、同Ptコロイドの触媒活性が高まる粒子径としては、好ましくは1～10nm、より好ましくは4～6nmの範囲が妥当であると考えられる。これは、上

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

記の難波氏らによる論文「Ptコロイドの作り方と使い方」に記載されているように、貴金属としての本来的な性質を発揮させることと、触媒活性向上を狙って表面積を稼ぐことと、のトレードオフ関係から導き出せる粒径である。しかも、本発明でいうコロイドとは、ドイツのシュタウディングガーが提案している、「 $10^{-3} \sim 10^{-9}$ 個の原子から構成されているものがコロイドである。」との定義にも合致するものである。さらに、本発明に係る貴金属コロイドは、その表面積を稼ぐために、その粒子形状が球形であることが好ましい。これは、貴金属コロイドの表面積が大きいということは、基質としての分子状水素との接触機会を増すことを意味するので、貴金属コロイドの触媒機能を発現する観点から有利であることに由来する。

さらに言えば、触媒とは、それ自身のはたらきを補う補酵素、無機化合物、有機化合物などの電子伝達体をもその範疇に含む。

こうした電子伝達体は、たとえば、電子供与体である、水素、水素酸化還元酵素ヒドロゲナーゼ、または貴金属コロイドから電子を円滑に受け取ることができると同時に、受け取った電子を、電子受容体である抗酸化対象に対して円滑に伝達できる性質を有することが好ましい。簡単に言えば、電子伝達体の役割は水素（電子）の運び屋である。

以下に、電子伝達体の候補を挙げておく。なお、電子伝達体は酸化型であるか還元型であるかを問わないが、還元型の電子伝達体では、あらかじめ余剰電子を持っているため、電子をより放出しやすい点で有利であるといえる。

(1) メチレンブルー（通常は酸化型）

メチルチオニン塩化物、テトラメチルチオニン塩化物

化学式=C₁₆H₁₈C₁N₃S·3(H₂O)

還元型メチレンブルーは、ロイコメチレンブルーという。

(2) ピオシアニン(pyocyanin)

化学式=C₁₃H₁₀N₂O

緑膿菌(*Pseudomonas aeruginosa*)が産生する抗生物質のひとつである。ピオシアニンは可逆的に酸化還元反応を行い、酸化型は、アルカリ性で青色を呈色する

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

場合と、酸性で赤色を呈色する場合と、の2種類がある。また、還元型は、還元型メチレンブルー（ロイコメチレンブルー）と同様に無色である。

(3) フェナジンメトスルフェート(phenazine methosulfate)

略称=PMS

化学式=C₁₄H₁₄N₂O₄S

フェナジンメトスルフェートは光分解されやすい傾向がある。

(4) 1-メトキシPMS

光に不安定な上記PMSの代替として開発され、光に安定である。

(5) 鉄(III)イオンを含む化合物

たとえば、FeCl₃ , Fe₂(SO₄)₃ , Fe(OH)₃ など多数がある。本来の目的は、鉄(III)イオンであるFe(3+)をイオンとして得るための試薬である。生体中には、赤血球のヘモグロビンのヘム鉄としての存在が考えられる。なお、ヘム鉄は、独立した鉄イオンとは性質が異なる。

特にin vitroでは、アスコルビン酸と共に役すると、酸化力の強いヒドロキシリジカル(·OH)を生成するから、鉄イオンはあればよいというわけではない。しかし、in vivoでは、鉄イオンは、一酸化窒素(NO)が共存すると、ヒドロキシリジカル(·OH)を生成しないこともあるといわれている。

特に2価鉄Fe(2+)は、3価鉄Fe(3+)の還元型であるが、還元型でも酸化作用を亢進することが多々ある。特に過酸化脂質があると、ラジカル連鎖反応が起りやすくなる。鉄(III)イオンFe(3+)がアスコルビン酸などにより還元されるとき、過酸化脂質が共存すると、ラジカル生成連鎖反応が起こる。つまり、多くの脂質ラジカルが生成し、生体に対して悪影響を与えると考えられる。

(6) 還元型アスコルビン酸(化学式=C₆H₈O₆)

生体中に存在するが、体外から吸収したものであり、ヒトでは合成できない。

(7) グルタチオン(化学式=C₁₀H₁₇N₃O₆S)

略称=GSH

生体内に多く存在するSH化合物であり、ヒトもこれを合成する遺伝子をもつていると推察される。3個のアミノ酸(グルタミン酸-システイン-グリシン=G

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

lu-Cys-Gly) からなるポリペプチドであり、グリオキサラーゼの補酵素であり、細胞内還元剤、老化防止剤としての機能などが知られている。また、グルタチオンは、酸素(O₂)を直接(非酵素的に)還元する機能を有している。

(8) システイン (Cys)

アミノ酸のひとつであるSH化合物であり、タンパク質を摂取して、消化分解した最終的な生成物である。上述したグルタチオンの構成要素であり、SH基を有するアミノ酸である。これも、グルタチオンのように、2個のシステインCysが、それぞれ水素原子1個を放出して、ジスルフィド結合(—s—s—)して酸化型システインになる。

(9) 安息香酸 (C₇H₆O₂)

生体中にはほとんど存在しないが、イチゴ類に0.05%程度含まれている。基本的な還元剤であり、ヒドロキシルラジカルを、非酵素的に、かつ効果的に消去し、水に変える機能を有している。

(10) p-アミノ安息香酸 (C₇H₇N₀₂)

(11) 没食子酸(C₇H₆O₅) (3,4,5-トリヒドロキシ安息香酸)

植物の葉、茎、根などに広く存在し、一般に止血剤や、食品用抗酸化剤(食品添加物)として用いられる。そのアルカリ性水溶液は、特に還元力が強い。酸素と反応しやすい傾向がある。

なお、ここで触媒として挙げたものはあくまで例示に過ぎず、これらのみに拘泥する趣旨ではない。したがって、本発明が想定している触媒反応に寄与する限りにおいて、たとえば、温度、超音波や攪拌などの物理的外力などの他のパラメータを除外する趣旨ではないことを明らかにしておく。

また、生成物としての活性水素とは、原子状水素(H·)と水素化物イオン(ヒドリドイオンH⁻)とを包括的に含む概念であることを付言しておく。

さらに、ここで述べたような触媒は、個々に単独で用いることもできるし、必要に応じて、適宜複数組み合わせて用いることもできる。基本的には、水素溶存水→触媒→抗酸化対象の順序で電子が伝達されるのであるが、これ以外にも、水素溶存水→酵素(ヒドログナーゼ)→抗酸化対象、水素溶存水→電子伝達体→抗

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

酸化対象、水素溶存水→酵素（ヒドロゲナーゼ）→電子伝達体→抗酸化対象、水素溶存水→貴金属コロイド→抗酸化対象、または、水素溶存水→貴金属コロイド→電子伝達体→抗酸化対象、などの順序で電子が伝達されることが想定される。また、こうした電子伝達系に対して、可視光線、紫外線、電子線を含む群から選択される少なくとも1つの電磁波を組み合わせて作用させることもできる。

抗酸化対象

抗酸化対象とは、電子の欠乏に起因して酸化状態にあるか、または酸化から防御したい対象物全般を想定している。なお、ここでいう酸化とは、酸素、熱、光、pH、イオン等の直接的または間接的な作用によって対象物から電子が引き抜かれる現象をいう。そして、抗酸化対象とは、具体的には、たとえば、生体細胞、または、工業用洗浄、食品洗浄ないし精密洗浄などの各産業分野における被洗浄対象物、さらには、ビタミン等の抗酸化物質、食品、医薬部外品、医薬品、化粧品、飼料、後述する酸化還元色素、ならびに水それ自体などを、本発明の技術的範囲の射程に捉えている。なお、ここで抗酸化対象として列挙したものはあくまで例示に過ぎず、これらのみに拘泥する趣旨ではないことを明らかにしておく。

次に、触媒と抗酸化対象との関係について、触媒の視点から言及する。

(i) 水素酸化還元酵素（ヒドロゲナーゼ）、または、貴金属コロイド

本発明では、水素溶存水中に含まれる基質としての分子状水素を、生成物としての活性水素に分解する反応を触媒するのが、たとえば水素酸化還元酵素、ヒドロゲナーゼ、または、貴金属コロイドである。

いま、還元電位水に水素酸化還元酵素、たとえばヒドロゲナーゼを加えたものを考える。たとえば弱アルカリ性の還元電位水にヒドロゲナーゼを加えたものを飲用したときに、胃腸などの消化器系生体細胞（抗酸化対象）において活性酸素などの酸化剤が共存する場合には、直ちにこれらの酸化剤を還元することになる。また、その他の添加物である果汁やビタミン類など（抗酸化対象）が共存するときには、還元電位水は、ヒドロゲナーゼが共存している条件下で、これら添加物の抗酸化剤として作用する。その作用機序は、還元電位水に溶存している分子状水素がヒドロゲナーゼの水素分解作用により二個の原子状水素（H・）に解離し

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

て活性化し、こうして生じた原子状水素（H・）が水の存在下でプロトンと電子に分かれ、そして生じた電子が抗酸化対象に供与される（抗酸化対象の還元）ものと考えられる。

また、還元電位水に貴金属コロイド、たとえば白金のコロイドを加えたものを考える。たとえば弱アルカリ性の還元電位水にPtコロイドを加えたものを飲用したときに、胃腸などの消化器系生体細胞（抗酸化対象）において活性酸素などの酸化剤が共存する場合には、直ちにこれらの酸化剤を還元することになる。また、その他の添加物である果汁やビタミン類など（抗酸化対象）が共存するときには、還元電位水は、Ptコロイドが共存している条件下で、これら添加物の抗酸化剤として作用する。その作用機序は、還元電位水に溶存している分子状水素がPtコロイドの微粒子表面に吸着するとともに二個の原子状水素（H・）に解離して活性化し、こうして生じた原子状水素（H・）が水の存在下でプロトンと電子に分かれ、そして生じた電子が抗酸化対象に供与される（抗酸化対象の還元）ものと考えられる。

こうした抗酸化機能は、還元電位水のような水素溶存水と、触媒としての水素酸化還元酵素ヒドログナーゼまたは貴金属コロイドと、消化器系生体細胞などの抗酸化対象と、の三者がそろってはじめて発現される。換言すれば、必要なときだけ還元力を発現し、不要なときには何らの作用効果も奏さない。しかも、その化学的成分組成に着目したとき、たとえば還元電位水は原水を電気分解して得られるごくふつうの水に過ぎない。したがって、還元力を発現した後においても、やはりふつうの水としてふるまうだけで生体などに対して何らの悪影響をも及ぼさないことが特筆すべき点である。言い換えれば、狙った正の作用は得られるが負の作用、いわゆる副作用は全く存在しない点が、従来の抗酸化剤や活性酸素消去剤との決定的な相違点であるといえる。

ここで、京都大学大学院理学研究科助教授である樋口芳樹氏の論文、「水素酸化還元酵素のX線構造化学」(Spring-8 Information/Vol.4 No.4 JULY 1999)を引用する。同氏は、「水素酸化還元酵素はヒドログナーゼと呼ばれ、広くバクテリアに見られるタンパク質である。一般には鉄、ニッケル、などを持つ金属タン

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

パク質であるが、最近これらの金属を全く持たない新規のヒドロゲナーゼも発見されている。この分子が水素を分解して生じる電子は菌体内の様々な酸化還元反応を円滑に進めていくのに利用される。また、細胞の膜表層で膜内外のプロトン濃度勾配を直接支配するため、ATP合成分解酵素との関連も含めて細菌内のエネルギー代謝系で重要な役割を担っていると考えられている。」との研究成果を発表している。同氏はまた、別の論文「放射光を用いた多波長異常分散法によるヒドロゲナーゼのX線結晶構造解析」において、「生物がエネルギーを獲得するための一連の反応系の中心酵素はATP合成分解酵素である。この酵素を活性化するためには細胞膜の内外にプロトン濃度勾配がつくられる必要があることは良く知られている。ヒドロゲナーゼは細胞膜表層に存在する膜タンパク質で膜周辺の分子状水素の酸化還元を触媒するという機能を持つ。つまりこのヒドロゲナーゼは膜内外のプロトン濃度勾配を直接支配して、ATP合成分解酵素の働きを制御していることになる。従って、ヒドロゲナーゼは生物のエネルギー代謝系を円滑に進めるために非常に重要な役割を持つ可能性がある。ヒドロゲナーゼの立体構造を明らかにすることは生命維持のメカニズムのうち最も重要なエネルギー代謝に関わる部分の構造と機能の関係が解明されることになり大きな意義がある。」との研究成果を発表している。

本発明者らは、同氏の、「ヒドロゲナーゼは膜内外のプロトン濃度勾配を直接支配して、ATP合成分解酵素の働きを制御することになる。従って、ヒドロゲナーゼは生物のエネルギー代謝系を円滑に進めるために非常に重要な役割を持つ可能性がある。」との知見に特に注目した。それは、ヒドロゲナーゼが生物に対するそうした効果を期せるということは、本発明に係る抗酸化方法、抗酸化機能水、または生体適用水を生体細胞へ適用したときの、細胞レベルでの抗酸化機能の発現とあわせて、プロトン濃度勾配の改善に由来するエネルギー代謝系の円滑促進が期せるであろうことを裏付けていると考えるからである。

したがって、本発明に係る水素酸化還元酵素、ヒドロゲナーゼまたは貴金属コロイドは、単球／マクロファージ系細胞の機能に関連または起因する疾患、特に、マクロファージ系細胞の機能の亢進または低下に関連または起因した疾患、組織

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

もしくは臓器の機能障害または病態の予防、改善または治療のための医薬品としての道筋も開けていると考えられる。

なお、医薬品としての具体例は次の通りである。すなわち、一般に水は、脂質膜、細胞膜、または脳血液閥門をも含め、生体のあらゆる箇所に速やかに到達できるという性質をもつため、活性酸素に由来する生体細胞の損傷部位に、注射、点滴、透析などの操作を介して水素酸化還元酵素ヒドロゲナーゼまたは貴金属コロイドを、水素溶存水とともに、または各別に送り込むことにより、同損傷部位の治癒効果を期待することができる。

ここで、水素酸化還元酵素ヒドロゲナーゼはタンパク質であり、これを生体の損傷部位に注射、点滴、透析などの操作を介して送り込むことを想定した場合、かかる酵素を生体の免疫機構が非自己と認識して抗原抗体反応が起こるおそれがあるといった問題がある。この問題を解決するには、生体がもつ経口寛容の原理を臨床的に応用すればよい。経口寛容とは、経口／経腸的に侵入する外来抗原に対して誘導される抗原特異的T／B細胞不応答性のことをいう。簡単にいえば、口から摂取した物質が例え抗原となりうるタンパク質であっても、それが小腸から吸収されていれば、その物質に対しては免疫寛容が成立するという現象が経口寛容であり、既にこの原理を応用した治療も試みられている。したがって、かかる経口寛容の原理を臨床的に応用することを通じて、抗酸化というあたらしい治療戦略に道を開きうるものと考えられる。

(ii) 可視光線、紫外線、または、X線等を含む電子線

本発明では、水素溶存水中に含まれる基質としての分子状水素を、生成物としての活性水素に分解する反応を触媒するのが、たとえば可視光線、紫外線、または、X線等を含む電子線である。

いま、還元電位水に、触媒としてたとえば紫外線を作用させたものを考える。具体的には、たとえば、半導体基板、特にシリコン基板の表面処理を行う工程のうちの最終洗浄工程において、純水に必要に応じて電解助剤を加えた被電解液を還元電位水生成装置で電解処理した還元電位水を用いて、シリコン基板を、被洗浄対象に対して紫外線（波長が150nm～300nm程度）を照射しながら洗

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

浄すると、還元電位水中の溶存水素を紫外線が触媒することで水素本来の還元力の封印が解き放たれる結果として、シリコン基板の表面（抗酸化対象）を酸化から予防または還元することができる。なお、この洗浄の際には、pH 7～13の還元電位水を用いることが好ましい。これは、シリコン基板に対してpH値が大きい溶液を用いれば、人体への安全性、装置の腐食等の観点から問題のある、シリコン基板上に残る弗素を除去することができるとともに、シリコン基板表面の酸化膜形成を予防することができるからである。さらに、ここで述べた洗浄の用途に本発明を採用する場合には、還元電位水生成装置を用いた循環電解技術を適用するのが好ましい。循環電解技術を用いて生成すると、溶存水素が豊富でORP値がさらに低い還元電位水が得られ、そうした還元電位水では優れた還元力を発揮し得るので、さらなる洗浄効果の向上を期せるからである。

こうした抗酸化機能は、還元電位水のような水素溶存水と、触媒としての紫外線と、シリコン基板の表面などの抗酸化対象と、の三者がそろってはじめて発揮される。換言すれば、必要なときだけ還元力を発揮し、不要なときには何らの作用効果も奏さない。しかも、その化学的成分組成に着目したとき、たとえば還元電位水は原水を電気分解して得られるごくふつうの水に過ぎない。したがって、還元力を発揮した後においても、やはりふつうの水としてふるまうだけで、被洗浄物であるシリコン基板の表面などに対して何らの悪影響をも及ぼさない。さらには、その還元作用によって珪素酸化物の発生が抑制されるため、素子化したときの電気的特性を劣化させる原因となる可能性がある水ガラスを生じさせることなく、従来の多種の酸・アルカリ水の混合液処理により得ていた処理効果と同等の清浄効果が期待できる。また、従来方法に比べて薬品使用量低減も実現可能である。この観点から、プロセスの安全確保、薬品等の使用量低減、そして工程の簡略化が可能となる。

抗酸化機能水、およびその用途

本発明によれば、水素溶存水に、この水素溶存水中に含まれる基質としての分子状水素を、生成物としての活性水素に分解する反応を触媒する水素酸化還元酵素、具体的には、たとえばヒドログナーゼ、または貴金属コロイドが添加されて

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

いることを特徴とする抗酸化機能水が提供される。

こうした構成を探る抗酸化機能水には、本発明において重要な三要素のうち、水素溶存水と触媒が含まれているので、あとは抗酸化対象にさえめぐりあれば、水素が潜在的に持つ還元力の封印が解き放たれて、本発明特有の抗酸化機能が発現される。

ところで、上述した構成を探る抗酸化機能水をたとえば飲用に供する場合であって、抗酸化対象としてたとえば大腸を想定した場合、大腸に到達する以前で水素が潜在的に持つ還元力の封印がほとんど解き放たれてしまったのでは、本来の目的を達成することができなくなるといった問題がある。

そこで、触媒としての水素酸化還元酵素、ヒドロゲナーゼ、または貴金属コロイドには、該触媒の反応時間を調整するための処理または操作が施されていることが好ましい。

ここで、触媒の反応時間を調整するための処理または操作とは、たとえば、図3に示すように、ヒドロゲナーゼ、または貴金属コロイドがたとえば大腸や小腸などの対象部位に到達したときに本来の触媒作用が開始されることを狙って、ヒドロゲナーゼ等を腸溶性カプセルなどに封入する処理や、ヒドロゲナーゼ入りの抗酸化機能水の温度やpHを、酵素ヒドロゲナーゼの活性を失活させることなく抑制し得る範囲に調製しておく操作などを含む。なお、ヒドロゲナーゼの至適pHは9付近であり、至適温度は49°C程度であると言われている。そして、こうした触媒の反応時間を調整するための処理または操作を、ヒドロゲナーゼ等またはその周辺環境に施すこと全般を、本発明の技術的範囲の射程に捉えている。

一方、触媒として貴金属コロイドを用いて、これを生体に適用するに際しては、安全性を担保することが必須である。具体的には、貴金属コロイド自体の急性毒性を含む生体親和性を考慮する必要がある。これについて、たとえば白金では、これをヒトが摂取してもそのほとんどが腎臓を経由して尿として速やかに排出されること、また、食品添加物として厚生労働省の認可を得ていること等を考慮すると、生体親和性の問題は生じないと考えられる。もうひとつの考慮すべき問題として、貴金属コロイドを抗酸化機能水中において安定かつ均一に分散させるた

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

めには、なんらかの分散剤的なものを添加する必要があるかもしれない。これについて、たとえば、飲用または化粧用の場合、食品添加物として厚生労働省の認可を得ているもののなかから、分散剤的な機能を有するものを適宜選択すればよい。この場合、たとえば、低刺激性で化粧品や医薬品用途にも汎用されている、ショ糖脂肪酸エステルなどが好適に用いられる。

こうした抗酸化機能水は、たとえば以下のような産業分野における応用展開が可能であると考えられる。

その第1は、医学・薬学分野における応用である。たとえば、輸液製造その他の薬剤の製造工程に利用することができる。また人工透析液剤、腹膜貫流液剤、薬剤としても利用することができる。これにより、活性酸素由来のあらゆる疾病的予防・治療や、副作用軽減効果を期することができる。

第2は皮膚組織の酸化がもたらす老化・退行変成の予防・治療剤としての応用である。たとえば、化粧水その他の化粧品の製造工程において利用することができる。

第3は抗酸化食品・機能性食品としての応用である。たとえば、食材製造工程における使用が考えられる。

第4は飲料水、加工飲料水その他における応用である。たとえば、飲料水（抗酸化水）としての使用、また、缶ジュース、缶コーヒー、ペットボトル水、清涼飲料等の加工飲料水の基水としての使用が考えられる。

第5は食材の農薬・除草剤・殺虫剤等による汚染・劣化の改善、鮮度保持への応用である。たとえば、野菜・果実等の出荷前の洗浄液として用いることができる。

第6は加工食品製造工程における防腐剤・保存剤・抗酸化剤などの代替剤としての応用である。具体的には、たとえば3~7種類にも及ぶ食品添加物の代替剤としての使用が考えられる。

発明の作用及び効果

前述したように、本発明において重要な要素は、第一に水素溶存水、第二に触媒、そして第三に抗酸化対象である。これらの三要素が有機的に結合されてはじ

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

めて、水素が潜在的に持つ還元力の封印が解き放たれて、抗酸化機能が顕在的に発現される。

本発明に係る抗酸化方法、および抗酸化機能水によれば、水素溶存水に触媒を作用させる過程を通じて、該水素溶存水中に含まれる基質としての分子状水素を、生成物としての活性水素に分解する反応を促進させることにより、電子の欠乏に起因して酸化状態にあるか、または酸化から防御したい抗酸化対象を、電子が充足された還元状態にし、これをもって、人体への安全性や環境負荷低減を高い水準で期することができる。

図面の簡単な説明

図1はネルンストの式を示すグラフ、図2はLEDを用いた点灯実験の様子を説明するための図、図3は本発明の応用例を説明するための図、図4は本発明の抗酸化方法を利用した半導体基板の洗浄システム100を示す概略図、図5は本発明に係る洗浄システム100等に用いられる還元電位水生成装置11の基本的構造を示す縦断面図、図6～図7はメチレンブルーの呈色変化によるPtコロイド触媒添加電解処理水の還元活性評価試験結果を示す図、図8～図9はメチレンブルーの呈色変化によるPtコロイド触媒添加水素溶存水の還元活性評価試験結果を示す図、図10～図11はメチレンブルーの呈色変化によるPdコロイド触媒添加水素溶存水の還元活性評価試験結果を示す図、図12～図13はメチレンブルーの呈色変化による貴金属混合(Pt+Pd)コロイド触媒添加水素溶存水の還元活性評価試験結果を示す図、図14はメチレンブルーの呈色変化によるPtコロイド触媒添加電解処理水(電解処理前添加／電解処理後添加)の還元活性評価試験結果を示す図、図15～図16はDPPHラジカルの呈色変化によるPtコロイド触媒添加電解処理水の抗酸化活性評価試験結果を示す図、図17～図18はDPPHラジカルの呈色変化による触媒添加水素溶存水(脱気処理+水素ガス封入処理)の抗酸化活性評価試験結果を示す図、図19～図20はメチレンブルーの呈色変化による酵素ヒドロゲナーゼ触媒添加水素溶存水(脱気処理+水素ガス封入処理)の還元活性評価試験結果を示す図、図21～図22は酸化還元色素酸化還元滴定による溶存水素濃度定量分析方法の説明に供する図、図2

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

3は各種サンプル水の溶存水素濃度D Hの実測値と実効値の対比説明に供する図である。

発明を実施するための最良の形態

以下、本発明の実施形態を図面に基づいて説明する。

まず図4を参照しながら本例の半導体基板の洗浄システム100を説明すると、この半導体基板洗浄システム100は、たとえば、酸化膜被覆された半導体基板の表面を部分的に露出して形成されたペアバターンを、純水、酸及び純水の混合溶液、アルカリ及び純水の混合溶液といった洗浄溶液を用いて表面処理する工程であり、この洗浄溶液に本発明に係る水素溶存水、特に還元電位水を用いるものである。ここで、本発明に係る抗酸化対象が半導体基板であり、本発明に係る触媒として後述する紫外線が用いられている。

図4に示すように、この洗浄システムは純水生成装置13と還元電位水生成装置11と処理槽16とを備え、純水生成装置13にて生成された純水14は、還元電位水生成装置11の導入口111に供給され、ここで電極板116, 117に電圧を印加することにより電気分解され、還元電位水15となる。そして、こうして得られた還元電位水15は、半導体基板（ウェハ）Wが投入される処理槽16に導入される。この処理槽16内では、ウェハWがウェハケース17に保持され、また、処理槽16に密閉可能な蓋18が設けられて大気からのダストや酸素、及び二酸化炭素等の混入を防ぐようになっている。

特に本例では、この処理槽16内に紫外線ランプ19が設けられており、上述した還元電位水15により洗浄中のウェハWに紫外線を照射することで、還元電位水に対する触媒作用を司る。

このように、本例の還元電位水生成装置11にて得られる還元電位水は必要なときだけ還元力を發揮し、不要なときには何らの作用効果も奏さない。しかも、その化学的成分組成に着目したとき、たとえば還元電位水は原水を電気分解して得られるごくふつうの水に過ぎない。したがって、還元力を發揮した後においても、やはりふつうの水としてふるまうだけで、被洗浄物であるシリコン基板の表面などに対して何らの悪影響をも及ぼさない。さらには、その還元

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

作用によって珪素酸化物の発生が抑制されるため、水ガラスを生じさせることなく、従来の多種の酸・アルカリ水の混合液処理により得ていた処理効果と同等の清浄効果が期待できる。また、従来方法に比べて薬品使用量低減も実現可能である。この観点から、プロセスの安全確保、薬品等の使用量低減、そして工程の簡略化が可能となる。

なお、同図において20は弗酸容器であって、バルブ21を開いて当該弗酸容器20内の弗酸溶液を還元電位水15に任意に加えることで、シリコンウェハW上の酸化膜を除去することができる。また、同図において22は気液分離装置であり、還元電位水に混入した不要なガスをバルブ23を介して除去することができる。

次に図5を参照して還元電位水生成装置11を詳細に説明する。

本例の還元電位水生成装置11には、純水などの原水を導入する導入口111と、生成された還元電位水を取り出すための導出口112とが形成されており、これら導入口111と導出口112との間に電解室113が形成されている。特に限定はされないが、本例の還元電位水生成装置11では、ケーシング114の底面に、図示する紙面に対して垂直方向に原水が導入されるように導入口111が形成され、ケーシング114の頂面に、図示する紙面に対して垂直方向に電解水が取水されるように導出口112が形成されている。

また、還元電位水生成装置11の左右の側壁には多孔性隔膜115が設けられており、この隔膜115の室外のそれぞれに、電極板116が接触した状態で設けられている。他方の電極板117は、その正面が一方の電極板116にそれぞれ対面するように電解室113内に設けられている。

これら二対の電極板116、117には、直流電源12が接続されており、隔膜115を挟んで対向する一対の電極板116、117の一方に陽極が、他方の電極板に陰極が印加されるようになっている。例えば、電解室113にて還元電位水を生成する場合には、図5に示されるように、電解室113内に設けられた電極板117に直流電源の陰極が接続され、電解室113外に設けられた電極板116に陽極が接続される。

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

なお、電解室 113 にて電解酸化水を生成する場合には、電解室 113 内に設けられた電極板 117 に直流電源の陽極を接続し、電解室 113 外に設けられた電極板 116 に陰極を接続すれば良い。

本例で用いられる隔膜 115 は、電解室 113 に流される水がしみ込みやすく、かつしみ込んだ水が垂れ難い性質のものが好ましい。すなわち、本例の還元電位水生成装置 11 では、電解中において隔膜 115 自体および隔膜 115 と電極板 116 間の僅かな隙間 S に水膜が形成され、この水膜を介して両電極板 116, 117 に電流が流れる。したがって、この水膜を構成する水が順次入れ替わることが電解効率を高める上で重要となる。また、隔膜 115 にしみ込んだ水が、隔膜 115 と電極板 116 との間から漏れるとその処理が必要となるため、しみ込んだ水が垂れ落ちない程度の含水性を有することが好ましい。ただし、隔膜としてたとえば固体電解質膜を採用する場合には、この固体電解質膜それ自体が電気伝導性を有しているので、この場合には隔膜 115 と電極板 116 間に僅かな隙間 S を形成することを省略することができる。

隔膜 115 の一例として、骨材がポリエステル不織布またはポリエチレンスクリーン、膜材質が塩素化エチレンまたはポリフッ化ビニリデンと酸化チタンあるいはポリ塩化ビニルであって、厚さが 0.1 ~ 0.3 mm、平均孔径が 0.05 ~ 1.0 μm 、透水量が $1.0 \text{cc}/\text{cm}^2 \cdot \text{min}$ 以下の多孔性膜、または、固体電解質膜などを例示することができる。隔膜 115 として陽イオン交換膜を使用する場合は、例えばデュ・ポン社製のナフィオン膜のような、ベース材料をポリテトラフルオロエチレンとした陽イオン交換基ペルフルオロスルホン酸膜や、旭化成製のフレミオン膜のような、陽イオン交換基ビニルエーテルとテトラフルオロエチレンの共重合体等を用いることができる。

一方、こうした隔膜 115 を挟んで対向して配置される一対の電極板 116, 117 の板間距離は、0 mm ~ 5.0 mm、より好ましくは 1.5 mm である。ここで電極板 116, 117 の板間距離が 0 mm とは、たとえば隔膜 115 の両主面のそれぞれに電極膜を直接形成したゼロギャップ電極を用いた場合であり、実質的には隔膜 115 の厚さ分の距離を有することをいう。ゼロギャップ

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

電極は隔膜115の一方の主面のみに電極を形成しても良い。また、このようなゼロギャップ電極を採用する場合には、電極表面から発生するガスを隔膜115とは反対の背面側へ逃がすための孔または隙間を電極板116, 117に設けておくことが望ましい。なお、電極板116, 117に孔または隙間を設ける構成を、図5に示す電解槽に設けられる電極板においても採用することができる。

また、電解室113内に設けられる電極板117, 117の板間距離は、特に限定されないが、0.5mm~5mm、より好ましくは1mmである。

このように構成された還元電位水生成装置11を用いて還元電位水を生成するには、まず、電解室113内に設けられた2枚の電極板117, 117に直流電源12の負極(−)を接続するとともに、電解室113外に設けられた電極板116, 116に直流電源12の正極(+)を接続し、隔膜115を挟んでそれぞれ対向する二対の電極板116, 117に電圧を印加する。そして、導入口111から純水などを導入すると、電解室113では水の電気分解が行われ、電極板117の表面及びその近傍で、



なる反応が生じる。また、隔膜115を挟んだ電解室113外の電極板116の表面、すなわち当該電極板116と隔膜115との間においては、



なる反応が生じる。

この H^+ イオンは、隔膜115に含蓄されながらここを通過し、その一部が陰極板117から電子 e^- を受容して、水素ガスとなって陰極側の生成電解水中に溶け込む。これにより、陰極側(すなわち電解室113内)で生成される電解水は、従来の有隔膜電解技術を用いて生成した電解水よりも酸化還元電位(O.R.P.)が低い還元電位水となる。

また、隔膜115を通過した H^+ イオンの残余は、電解室113中の OH^- イオンと反応して水に戻るため、電解室113で生成される還元電位水のpHは、若干中性に近づくことになる。つまり、pHはさほど高くないがO.R.P.が

WO 03/002466

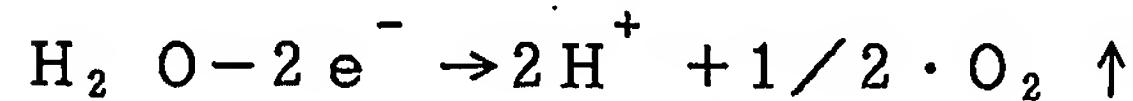
PCT/JP02/06560

低い還元電位水が得られることになる。このようにして生成された水酸化物イオンを含む還元電位水は、導出口 112 から供給される。

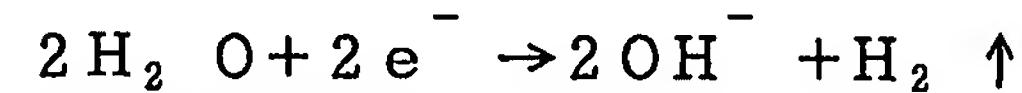
なお、こうした電解処理により得られる還元電位水を所望の pH 値にしたい場合には、例えばフタル酸塩、リン酸塩、ホウ酸塩などの pH 緩衝作用塩の溶液を用いるなどして、あらかじめ原水の pH 値を調製しておけばよい。本還元電位水生成装置 11 では、原水の pH を大きくは変化させないからである。具体的には、たとえば、シリコン基板の洗浄や飲料の用途を狙って pH をアルカリ性に傾かせたいのであれば、原水の pH 値をアルカリ性付近に管理調製すればよく、また、飲料、注射液、点滴液、または透析液の用途を狙って pH をほぼ中性にしたいのであれば、原水の pH 値を中性付近に管理調製すればよく、さらには、化粧料の用途を狙って pH を弱酸性にしたいのであれば、原水の pH 値を弱酸性付近に管理調製すればよい。

ちなみに、上述した実施形態では還元電位水を生成する装置として図 5 に示すものを説明したが、この装置 11 は酸化電位水を生成する場合にも適用できる。この場合には、電解室 113 内に設けられた 2 枚の電極板 117, 117 に直流電源 12 の陽極 (+) を接続するとともに、電解室 113 外に設けられた電極板 116, 116 に直流電源 12 の陰極 (-) を接続し、隔膜 115 を挟んでそれぞれ対向する二対の電極板 116, 117 に電圧を印加すればよい。

そして、導入口 111 から純水などを導入すると、電解室 113 では水の電気分解が行われ、電極板 117 の表面及びその近傍で、



なる反応が生じる一方、隔膜 115 を挟んだ電解室 113 外の電極板 116 の表面、すなわち当該電極板 116 と隔膜 115 との間の水膜においては、



なる反応が生じる。

この OH⁻ イオンは、隔膜 115 に含蓄されながらここを通過し、その一部が陰極板 117 に電子 e⁻ を受渡して、酸素ガスとなって陽極側の生成電解水中に溶け込む。これにより、陽極側（すなわち電解室 113 内）で生成される

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

電解水は、従来の有隔膜電解技術を用いて生成した電解水よりも酸化還元電位(ORP)が高い酸化電位水となる。

また、隔膜115を通過したOH⁻イオンの残余は、電解室113中のH⁺イオンと反応して水に戻るため、電解室113で生成される酸化電位水のpHは、若干中性に近づくことになる。つまり、pHはさほど低くないがORPが高い酸化電位水が得られることになる。こうして生成された水素イオンを含んだ酸化電位水は、導出口112から供給される。

ちなみに、図5に示す還元電位水生成装置11を用い、電解室113内に設けられた2枚の電極板117, 117に直流電源12の陰極(-)を接続するとともに、電解室113外に設けられた電極板116, 116に直流電源12の陽極(+)を接続して(電極板の有効面積は1dm²)、pHが7.9、ORPが+473mVの藤沢市水道水を毎分1リットルの流速で5A定電流の電解条件にて連続通水式に電解処理を行った。このとき隔膜115として、陽イオン交換膜であるデュ・ポン社製のナフィオノン膜を用い、電極板116, 117間の距離は1.2mm、電解室113内における電極板117, 117間の距離は1.4mmとした。この結果、電解処理直後において、pH=9.03、ORP=-720mVの還元電位水が得られた。また、この還元電位水を静置して、5分後、10分後、および30分後のpHおよびORPを測定したところ、5分後にはpH=8.14, ORP=-706mV、10分後にはpH=8.11, ORP=-710mV、30分後にはpH=8.02, ORP=-707mVとなった。すなわち、電解処理直後の時点では同処理水のpHは9を越えていたが、すぐにpHが下がりpH8付近で安定した。これは、隔膜115と陽極板116との間の水膜付近で生じたH⁺イオンは、隔膜115を通過して電解室113に移動したのち、同電解室113内のOH⁻イオンと中和反応してもとの水に戻るのであるが、かかる中和反応は、電解処理後の還元電位水を静置しておいた場合でも、濃度的な化学平衡が成立するまで経時に促進されることが原因であると考えられる。

貴金属コロイド触媒添加水素溶存水の還元活性／ラジカル消去活性評価試験

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

以下に、本発明に係る水素溶存水に貴金属コロイド触媒（Ptコロイド/Pdコロイド）を加えたとき、同水素溶存水中に含まれる化学的に不活性な分子状水素が活性化することで発現する還元活性またはラジカル消去活性の各評価試験について、各自の実施例と参考例をそれぞれ示す。

上述した二通りの評価試験形態のうち、還元活性評価試験では、抗酸化対象としてメチレンブルー（テトラメチルチオニン塩化物； $C_{16}H_{18}ClN_3S \cdot 3(H_2O)$ ）を用いる一方、ラジカル消去活性の評価試験では、抗酸化対象として水溶液中で比較的安定なラジカルであるDPPHラジカル（1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl）を用いる。

ここで、抗酸化対象として酸化還元色素の範疇に属するメチレンブルーを用いた場合の還元活性評価原理について説明すると、酸化型メチレンブルー水溶液（吸収極大波長；665 nm程度、以下、メチレンブルーを「MB」と呼ぶ場合がある。）は青色を呈しているが、それが還元されて還元型メチレンブルー（ロイコメチレンブルー）となったとき、青色から無色に呈色変化する。この青色消失の程度で、還元活性つまり還元力を評価する。なお、還元型メチレンブルーは溶解度が低いため白色沈殿物が生じるが、再酸化されると元の酸化型メチレンブルーとなり、青色にもどる。つまり、メチレンブルー水溶液の呈色反応は可逆的である。

一方、抗酸化対象としてDPPHラジカルを用いた場合のラジカル消去活性評価原理について説明すると、DPPHラジカル水溶液（吸収極大波長；520 nm程度、以下、「DPPH」と呼ぶ場合がある。）は濃紅色を呈しており、かかるDPPHは還元されてラジカルではなくなると濃紅色が退色する。この退色の程度で、ラジカル消去活性、つまり抗酸化力を評価する。なお、DPPHラジカル水溶液の呈色反応は非可逆的である。

かかる評価試験の説明は、（1）メチレンブルーの呈色変化によるPtコロイド触媒添加電解処理水の還元活性評価、（2）メチレンブルーの呈色変化によるPtコロイド/Pdコロイド触媒添加水素溶存水（脱気処理+水素ガス封入処理）の還元活性評価、（3）メチレンブルーの呈色変化によるPtコロイド触媒

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

添加電解処理水（電解処理前添加／電解処理後添加）の還元活性評価、（4）DPPHラジカルの呈色変化によるPtコロイド触媒添加電解処理水の抗酸化活性評価、（5）DPPHラジカルの呈色変化による触媒添加水素溶存水（脱気処理＋水素ガス封入処理）の抗酸化活性評価、の順序で行うものとする。

（1）メチレンブルーの呈色変化によるPtコロイド触媒添加電解処理水の還元活性評価

（1-A）；還元力評価試験手順

和光純薬工業株式会社製の標準緩衝液6.86（リン酸塩水溶液）および9.18（ホウ酸塩水溶液）を、それぞれ精製水で10倍希釀したpH緩衝水溶液を調製する。以下では、これら2種類の希釀水を、「基本水6.86」、「基本水9.18」とそれぞれ呼ぶ。また、田中貴金属製の白金コロイド4%溶液0.6gを、和光純薬工業株式会社製の蒸留水500mLに溶かしたものを「Pt基準液」と呼ぶ。なお、Pt基準液の白金成分の濃度C(Pt)は、計算式 $C(Pt) = 0.6g \times 0.04 / 500mL$ から48mg/L濃度となる。そして、上記2種類の基本水6.86および9.18と、Pt基準液とを用いて、各4種類、都合8種類のサンプル水溶液を調製した。それらを以下に示す。

- i. 基本水(6.86)
- ii. 基本水(6.86)1494mLに、Pt基準液を6mL加えた、Ptコロイド入りの水溶液
- iii. 基本水(6.86)を電解処理した水溶液
- iv. 基本水(6.86)1494mLにPt基準液を6mL加えてPtコロイド入りの水溶液とし、さらに、同水溶液を電解処理した水溶液
- v. 基本水(9.18)
- vi. 基本水(9.18)1494mLに、Pt基準液を6mL加えた、Ptコロイド入りの水溶液
- vii. 基本水(9.18)を電解処理した水溶液
- viii. 基本水(9.18)1494mLに、Pt基準液を6mL加えてPtコロイド入りの水溶液とし、さらに、同水溶液を電解処理した水溶液

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

なお、上記 i ~ viiiの都合 8通りの各サンプル水溶液において、pH、ORP (mV)、温度T (°C)、Ptコロイドの濃度を、次の表2にまとめて示す。

表2

サンプル番号	基本水6. 86				基本水9. 18			
	i	ii	iii	iv	v	vi	vii	viii
pH	7.0	7.0	7.1	7.1	9.1	9.1	9.5	9.5
ORP (mV)	186	186	-625	-624	130	130	-745	-745
Pt濃度 ($\mu\text{g/L}$)	0	192	0	192	0	192	0	192
温度 (°C)	20	20	20	20	20	20	20	20

上記 i ~ viiiの都合 8通りの各サンプル水溶液の還元活性をそれぞれ調べるために、各水溶液 350 mLにメチレンブルー (1 g/L 濃度) 溶液を 10 mL加え、メチレンブルーモル濃度を 74.4 μM に調製して、各サンプル水溶液のメチレンブルー吸光度 (A589 ; 波長 589 nmにおける吸光度) を分光光度計で測定した。

(1-B) ; 参考例および実施例の開示

(参考例1)

サンプル i の基本水 6. 86 である触媒無添加水溶液にメチレンブルーを加えた水溶液のメチレンブルー吸光度 (A589) を参考例1とし、その結果を図6に示す。

(参考例2)

サンプル ii の (基本水 6. 86 + Pt基準液) である触媒添加水溶液にメチレンブルーを加えた水溶液のメチレンブルー吸光度 (A589) を参考例2とし、その結果を図6に示す。

(参考例3)

サンプル iii の (基本水 6. 86 + 電解処理) である触媒無添加電解処理水にメチレンブルーを加えた水溶液のメチレンブルー吸光度 (A589) を参考例3と

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

し、その結果を図6に示す。

(実施例1)

サンプルivの（基本水6.86+電解処理+Pt基準液）である触媒添加電解処理水にメチレンブルーを加えた水溶液のメチレンブルー吸光度（A₅₈₉）を実施例1とし、その結果を参考例1～3と対比させつつ図6に示す。

(参考例4)

サンプルvの基本水9.18である触媒無添加水溶液にメチレンブルーを加えた水溶液のメチレンブルー吸光度（A₅₈₉）を参考例4とし、その結果を図7に示す。

(参考例5)

サンプルviの（基本水9.18+Pt基準液）である触媒添加水溶液にメチレンブルーを加えた水溶液のメチレンブルー吸光度（A₅₈₉）を参考例5とし、その結果を図7に示す。

(参考例6)

サンプルviiの（基本水9.18+電解処理）である触媒無添加電解処理水にメチレンブルーを加えた水溶液のメチレンブルー吸光度（A₅₈₉）を参考例6とし、その結果を図7に示す。

(実施例2)

サンプルviiiの（基本水9.18+電解処理+Pt基準液）である触媒前添加電解処理水にメチレンブルーを加えた水溶液のメチレンブルー吸光度（A₅₈₉）を実施例2とし、その結果を参考例4～6と対比させつつ図7に示す。

(1-C) ; 実施例の考察

実施例1、2の結果を参考例1～6と対比させつつ考察すると、実施例1、2の触媒添加電解処理水は、参考例1～6と比較して、そのpHの差異にかかわらず特異的にメチレンブルーを還元しており、触媒添加電解処理水だけが大きな還元活性を示しているといえる。なお、メチレンブルー水溶液の青色呈色の有無を目視で確認すると、実施例1、2の触媒添加電解処理水だけが無色透明であり、メチレンブルーの青色消失を認めた。なお、参考例1～6では、メチレンブルー

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

ルーの青色消失は観認できなかった。また、実施例1、2の触媒添加水素溶存水では、多量の白色沈殿物（還元型メチレンブルー）を目視確認できた。

（2）メチレンブルーの呈色変化によるPtコロイド/Pdコロイド触媒添加水素溶存水（脱気処理+水素ガス封入処理）の還元活性評価

（2-A）；還元力評価試験手順

株式会社ニッポンジーン製造、和光純薬工業株式会社販売の、特注1MのTris-HCl（pH 7.4）と、同1MのTris-HCl（pH 9.0）を、それぞれ和光純薬工業株式会社製の蒸留水で20倍希釀し、Tris-HClの50mM濃度水溶液を調製する。以下では、これら2種類の希釀水を「基本水7.4」、「基本水9.0」とそれぞれ呼ぶ。また、田中貴金属社製のパラジウムコロイド4%溶液0.6gを、和光純薬工業株式会社製の蒸留水500mLに溶かしたものを「Pd基準液」と呼ぶ。このPd基準液のパラジウム成分の濃度C(Pd)は、Ptコロイドと同様の計算式から、 $C(Pd) = 0.6g \times 0.04 / 500mL = 4.8mg/L$ 濃度となる。

次に、基本水7.4および基本水9.0をそれぞれ84mL採取し、1g/L濃度のMB水溶液をそれぞれに4mL加え、121.7μM濃度のMB入り基本水7.4および基本水9.0を各調製する。さらに、これらのMB入り基本水7.4、9.0をそれぞれ個別の脱気ビンに50mLづつ採取し、真空ポンプにて10分間脱気した後に水素ガスを10分間封入する操作を3回繰り返す。なお、かかる操作は水素溶存水中における水素以外の気体成分の除去を狙ったものである。

このようにして得られた、水素ガス封入済みのMB入り基本水7.4および基本水9.0をそれぞれ3mL採取し、これらを密閉系であらかじめ水素ガス置換した石英セルに投入し、さらに、Pt基準液、Pd基準液、または、Pt基準液とPd基準液とのモル比が約1となる混合溶液のそれぞれを同石英セルに加えたときの、メチレンブルーの吸光度変化（ $\Delta A 572$ ；波長572nmにおける吸光度変化）を測定した。

（2-B）；実施例の開示

（実施例3）

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

MB入り水素溶存水（MB入り基本水7.4+脱気処理+水素ガス封入処理）に、Pt基準液をPtコロイド濃度が $190\mu\text{g}/\text{L}$ となる量だけ加えた水溶液のメチレンブルー吸光度変化（ ΔA_{572} ）を実施例3とし、その結果を図8、図9にそれぞれ示す。

（実施例4）

MB入り水素溶存水（MB入り基本水9.0+脱気処理+水素ガス封入処理）に、Pt基準液をPtコロイド濃度が $190\mu\text{g}/\text{L}$ となる量だけ加えた水溶液のメチレンブルー吸光度変化（ ΔA_{572} ）を実施例4とし、その結果を実施例3と対比しつつ図8に示す。なお、実施例3と実施例4の各サンプル水の相違点はpHである。

（実施例5）

MB入り水素溶存水（MB入り基本水7.4+脱気処理+水素ガス封入処理）に、Pt基準液をPtコロイド濃度が $95\mu\text{g}/\text{L}$ となる量だけ加えた水溶液のメチレンブルー吸光度変化（ ΔA_{572} ）を実施例5とし、その結果を実施例3と対比しつつ図9に示す。なお、実施例3と実施例5の各サンプル水の相違点はPtコロイド濃度である。

（実施例6）

MB入り水素溶存水（MB入り基本水7.4+脱気処理+水素ガス封入処理）に、Pd基準液をパラジウムコロイド濃度が $444\mu\text{g}/\text{L}$ となる量だけ加えた水溶液のメチレンブルー吸光度変化（ ΔA_{572} ）を実施例6とし、その結果を図10、図11にそれぞれ示す。

（実施例7）

MB入り水素溶存水（MB入り基本水9.0+脱気処理+水素ガス封入処理）に、Pd基準液をパラジウムコロイド濃度が $444\mu\text{g}/\text{L}$ となる量だけ加えた水溶液のメチレンブルー吸光度変化（ ΔA_{572} ）を実施例7とし、その結果を実施例6と対比しつつ図10に示す。なお、実施例6と実施例7の各サンプル水の相違点はpHである。

（実施例8）

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

MB入り水素溶存水（MB入り基本水7.4+脱気処理+水素ガス封入処理）に、Pd基準液をパラジウムコロイド濃度が $111\mu\text{g}/\text{L}$ となる量だけ加えた水溶液のメチレンブルー吸光度変化（ ΔA_{572} ）を実施例8とし、その結果を実施例6と対比しつつ図11に示す。なお、実施例6と実施例8の各サンプル水の相違点はパラジウムコロイド濃度である。

（実施例9）

MB入り水素溶存水（MB入り基本水7.4+脱気処理+水素ガス封入処理）に、Pt基準液とPd基準液とのモル比が約1となる混合溶液を貴金属混合（Pt+Pd）コロイド濃度が $160\mu\text{g}/\text{L}$ となる量だけ加えた水溶液のメチレンブルー吸光度変化（ ΔA_{572} ）を実施例9とし、その結果を図12、図13にそれぞれ示す。

（実施例10）

MB入り水素溶存水（MB入り基本水9.0+脱気処理+水素ガス封入処理）に、実施例9と同様の混合溶液を貴金属混合（Pt+Pd）コロイド濃度が $160\mu\text{g}/\text{L}$ となる量だけ加えた水溶液のメチレンブルー吸光度変化（ ΔA_{572} ）を実施例10とし、その結果を実施例9と対比しつつ図12に示す。なお、実施例9と実施例10の各サンプル水の相違点はpHである。

（実施例11）

MB入り水素溶存水（MB入り基本水7.4+脱気処理+水素ガス封入処理）に、実施例9と同様の混合溶液を貴金属混合（Pt+Pd）コロイド濃度が $80\mu\text{g}/\text{L}$ となる量だけ加えた水溶液のメチレンブルー吸光度変化（ ΔA_{572} ）を実施例11とし、その結果を実施例9と対比しつつ図13に示す。なお、実施例6と実施例8の各サンプル水の相違点は貴金属（Pt+Pd）コロイド濃度である。

（2-C）；実施例の考察

実施例3、4を対比している図8は、pH7.4およびpH9.0におけるPtコロイド添加水素溶存水のMB還元活性を示す。同図によれば、pHの相違によるMB還元活性に大差はみられず、両者ともに高いMB還元活性を示している。

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

実施例3、5を対比している図9は、Ptコロイド濃度95μg/Lおよび190μg/LにおけるPtコロイド添加水素溶存水のMB還元活性を示す。同図によれば、Ptコロイド濃度の高い方がMB還元活性も高くなっている。このことから、MB還元活性を高めるためには、Ptコロイド濃度を高くすることが効果的であると考えられる。

実施例6、7を対比している図10は、pH7.4およびpH9.0におけるPdコロイド添加水素溶存水のMB還元活性を示す。同図によれば、pHの相違によるMB還元活性に大差はみられず、両者ともに高いMB還元活性を示している。

実施例6、8を対比している図11は、Pdコロイド濃度111μg/Lおよび444μg/LにおけるPdコロイド添加水素溶存水のMB還元活性を示す。同図によれば、Pdコロイド濃度の高い方がMB還元活性も高くなっている。このことから、MB還元活性を高めるためには、Pdコロイド濃度を高くすることが効果的であると考えられる。

実施例9、10を対比している図12は、pH7.4およびpH9.0における貴金属混合(Pt+Pd)コロイド添加水素溶存水のMB還元活性を示す。同図によれば、pHの相違によるMB還元活性に大差はみられず、両者ともに高いMB還元活性を示している。

実施例9、11を対比している図13は、貴金属混合(Pt+Pd)コロイド濃度80μg/Lおよび160μg/Lにおける貴金属混合(Pt+Pd)コロイド添加水素溶存水のMB還元活性を示す。同図によれば、貴金属混合(Pt+Pd)コロイド濃度の高い方がMB還元活性も高くなっている。このことから、MB還元活性を高めるためには、貴金属混合(Pt+Pd)コロイド濃度を高くすることが効果的であると考えられる。

また、図8(実施例3、4; Ptコロイド添加水素溶存水のMB還元活性)と図10(実施例6、7; Pdコロイド添加水素溶存水のMB還元活性)を対比すると、実施例3、4の方が濃度が低いにもかかわらず、実施例6、7と同等のMB還元活性を示していることがわかる。さらに、両者のモル濃度(μM)を対比

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

しても、Ptコロイドは $0.98 \mu\text{M}$ であるのに対してPdコロイドは $4.17 \mu\text{M}$ であり、Ptコロイドの方が低い。このことから、本発明に係る貴金属触媒に期待するMB還元活性について、同等のMB還元活性を得るためにの使用量が少なくて済むという意味で、Ptコロイドの方がPdコロイドよりも優れているといえる。

一方、図8（実施例3、4；Ptコロイド添加水素溶存水のMB還元活性）と図12（実施例9、10；貴金属混合（Pt+Pd）コロイド添加水素溶存水のMB還元活性）を対比すると、両者ともに優れたMB還元活性を示していることがわかる。両者のモル濃度（ μM ）を対比してみても、Ptコロイドでは $0.98 \mu\text{M}$ であるのに対して貴金属混合（Pt+Pd）コロイドでは $1.07 \mu\text{M}$ であり、両者はほぼ等しい。このことから、本発明に係る貴金属触媒に期待するMB還元活性について、Ptコロイドと貴金属混合（Pt+Pd）コロイドとは、ほぼ同等であるといえる。

（3）メチレンブルーの呈色変化によるPtコロイド触媒添加電解処理水（電解処理前添加／電解処理後添加）の還元活性評価

（3-A）；還元力評価試験手順

上記（1-A）で調製したものと同様の基本水 6.86 を 2000 mL 調製し、このなかから 1000 mL にPt基準液 4 mL を加えて、Ptコロイド入り基本水 6.86 を約1リットル調製する。残りの 1000 mL にはまだPtコロイドを加えないでおく。このようにして、Ptコロイド無しの基本水 6.86 を約1リットルと、Ptコロイド入りの基本水 6.86 約1リットルとを調製する。

次に、両サンプルを各別に電解処理して得られる電解処理水（水素溶存水）をそれぞれ 2.86 mL だけ採取し、これらをあらかじめ水素ガス置換した密閉系の石英セルに投入する。

さらに、Ptコロイド無しのセルには、あらかじめ脱気して水素ガスを封入した 1 g/L 濃度のメチレンブルー水溶液を 0.14 mL だけ添加する。ここで、両セルを分光光度計にセットして待機する。

次に、Ptコロイド無しのセルには 48 mg/L 濃度のPtコロイド溶液を 1

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

2 μL 添加する一方、Ptコロイド入りのセルには、あらかじめ脱気処理と水素ガス封入処理済の1 g/L濃度のメチレンブルー水溶液を0.14 mL加えて、両セル溶液の分光光度計での測定を開始させる。なお、両セル内に添加されているPtコロイド濃度は、それぞれが約182 μg/Lとなるように調製してある。

(3-B) ; 実施例の開示

(実施例12)

触媒前添加電解処理水 (MB入り基本水6.86+Ptコロイド電解前添加) の、測定開始から30分間までにおける、メチレンブルー吸光度 (A572; 波長572 nmにおける吸光度) の最小値を実施例12とし、その結果を図14に示す。

(実施例13)

触媒後添加電解処理水 (MB入り基本水6.86+Ptコロイド電解後添加) の、測定開始から30分間までにおける、メチレンブルー吸光度 (A572) の最小値を実施例13とし、その結果を実施例12と対比させつつ図14に示す。

(3-C) ; 実施例の考察

実施例12、13を対比している図14は、Ptコロイドの添加時期 (電解処理前か後か) を異ならせたときの電解処理水のMB還元活性を示す。同図によれば、Ptコロイドは電解処理前に加えた方が、より高いMB還元活性を得られることがわかる。この理由は現在追跡調査中であるが、MB還元活性のもととなる活性化した水素が、電解処理水中の酸素等の酸化物質がもつ酸化力を無効化していることに由来するものと推測される。これは、Ptコロイド入りの活性炭処理水を原水として電解処理を施した電解処理水の溶存酸素濃度を、その電解処理直後に計測してみたところ、同電解処理水の溶存酸素濃度がほとんどゼロになっていることから導き出された推論である。そうすると、かかる電解処理の例に限らず、水素封入処理や水素ガスバーリング処理においても、触媒 (Ptコロイド) の処理前添加は、より高いMB還元活性を得る (酸素等の酸化物質がもつ酸化力の無効化に由来) 観点から好ましいものと考えられる。さらに、例えば原水に還元剤を添加する処理を施すことで溶存水素水を得る場合においても、原水にあら

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

かじめ Ptコロイドを加えておくことは、上記と同様により高いMB還元活性を得る観点から好ましいものと考えられる。なお、触媒としてはPtコロイドに限らず、Pdコロイドや、PtコロイドとPdコロイドとの混合コロイドの場合も同様に、触媒の処理前添加は、より高いMB還元活性を得る観点から好ましい。

(4) DPPHラジカルの呈色変化によるPtコロイド触媒添加電解処理水の抗酸化活性評価

(4-A) ; 抗酸化活性評価試験手順

上記の(1-A)で調製したものと同様に、表2に示すサンプルi～viiiの都合8通りの各サンプル水溶液がもつ抗酸化活性をそれぞれ調べるために、各水溶液16mLに、DPPH(0.16g/L濃度)溶液を4mL加え、DPPHモル濃度を81.15(μM)に調製して、DPPHを添加してから3分後の各サンプル水溶液のDPPH吸光度変化(ΔA540；波長540nmにおける吸光度変化)を、分光光度計で測定した。

(4-B) ; 参考例および実施例の開示

(参考例7)

サンプルiの基本水6.86である触媒無添加水溶液にDPPHを加えた水溶液のDPPH吸光度差(ΔA540)を参考例7とし、その結果を図15に示す。なお、同図におけるDPPH吸光度変化(ΔA540)は、本サンプルi(ブランク)の吸光度に対する、サンプルi～ivの吸光度との差分(ΔA540)を示す。したがって、参考例7のDPPH吸光度変化(ΔA540)はゼロとなる。

(参考例8)

サンプルiiの(基本水6.86+Pt基準液)である触媒添加水溶液にDPPHを加えた水溶液のDPPH吸光度変化(ΔA540)を参考例8とし、その結果を図15に示す。

(参考例9)

サンプルviiiの(基本水6.86+電解処理)である触媒無添加電解処理水にDPPHを加えた水溶液のDPPH吸光度変化(ΔA540)を参考例9とし、その結果を図15に示す。

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

(実施例 1 4)

サンプルivの（基本水 6. 8 6 + 電解処理 + Pt 基準液）である触媒添加電解処理水にDPPHを加えた水溶液のDPPH吸光度変化 (ΔA_{540}) を実施例 1 4 とし、その結果を参考例 7～9 と対比させつつ図 1 5 に示す。

(参考例 1 0)

サンプルvの基本水 9. 1 8 である触媒無添加水溶液にDPPHを加えた水溶液のDPPH吸光度変化 (ΔA_{540}) を参考例 1 0 とし、その結果を図 1 6 に示す。なお、同図におけるDPPH吸光度変化 (ΔA_{540}) は、本サンプルv（ブランク）の吸光度に対する、サンプルv～viiiの吸光度との差分 (ΔA_{540}) を示す。したがって、参考例 1 0 のDPPH吸光度変化 (ΔA_{540}) はゼロとなる。

(参考例 1 1)

サンプルviの（基本水 9. 1 8 + Pt 基準液）である触媒添加水溶液にDPPHを加えた水溶液のDPPH吸光度変化 (ΔA_{540}) を参考例 1 1 とし、その結果を図 1 6 に示す。

(参考例 1 2)

サンプルviiの（基本水 9. 1 8 + 電解処理）である触媒無添加電解処理水にDPPHを加えた水溶液のDPPH吸光度変化 (ΔA_{540}) を参考例 1 2 とし、その結果を図 1 6 に示す。

(実施例 1 5)

サンプルviiiの（基本水 9. 1 8 + 電解処理 + Pt 基準液）である触媒添加電解処理水にDPPHを加えた水溶液のDPPH吸光度変化 (ΔA_{540}) を実施例 1 5 とし、その結果を参考例 1 0～1 2 と対比させつつ図 1 6 に示す。

(4-C) ; 実施例の考察

実施例 1 4、1 5 の結果を参考例 7～1 2 と対比させつつ考察すると、基本水 6. 8 6 および 9. 1 8 の両者において実施例 1 4、1 5 の触媒添加電解処理水は、参考例 7～1 2 と比較して、特異的に DPPH ラジカルを消去しており、大きな抗酸化活性、またはラジカル消去活性を示している。ちなみに、Pt コロイ

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

ド触媒は電解処理前に添加している。なお、図15に示すように、参考例9では、触媒無添加電解処理水であるにもかかわらずDPPHラジカル消去活性が認められる。これは、高濃度の水素を溶存した電解処理水においては、そのpHなどの条件によっては、触媒の助けがなくとも抗酸化活性の発現が期せる可能性を示唆していると考えられる。

(5) DPPHラジカルの呈色変化による触媒添加水素溶存水（脱気処理+水素ガス封入処理）の抗酸化活性評価

(5-A) ; 抗酸化活性評価試験手順

上記(2-A)と同様に、「基本水7.4」、「基本水9.0」を用意し、次に、 $406\text{ }\mu\text{M}$ のDPPH溶液と、基本水7.4および基本水9.0をそれぞれ50mL採取し、真空ポンプにて10分間脱気した後に水素ガスを10分間封入する操作を3回繰り返す。なお、かかる操作は水素溶存水中における水素以外の気体成分の除去を狙ったものである。

このようにして得られた、水素ガス封入済みのDPPH溶液0.3mLと、基本水7.4および基本水9.0をそれぞれ2.7mL採取し、これらを密閉系であらかじめ水素ガス置換した石英セルに投入し、同石英セルに、Pt基準液をえたものと加えないものの両者について、DPPHの吸光度変化(ΔA_{540} ; 波長540nmにおける吸光度変化)を分光光度計にて30分間にわたりそれぞれ測定した。

(5-B) ; 参考例および実施例の開示

(参考例13)

水素溶存水（基本水7.4+脱気処理+水素ガス封入処理）にPt基準液を加えていない水溶液のDPPH吸光度変化(ΔA_{540})を参考例13とし、その結果を図17に示す。

(実施例16)

水素溶存水（基本水7.4+脱気処理+水素ガス封入処理）に、Pt基準液をPtコロイド濃度が $190\text{ }\mu\text{g/L}$ となる量だけえた水溶液のDPPH吸光度変化(ΔA_{540})を実施例16とし、その結果を参考例13と対比させつつ図

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

17に示す。なお、参考例13と実施例16の相違点は、Ptコロイドの添加有無である。

(参考例14)

水素溶存水（基本水9.0+脱気処理+水素ガス封入処理）にPt基準液を加えていない水溶液のDPPH吸光度変化（ ΔA_{540} ）を参考例14とし、その結果を図18に示す。

(実施例17)

水素溶存水（基本水9.0+脱気処理+水素ガス封入処理）に、Pt基準液をPtコロイド濃度が $190\mu g/L$ となる量だけ加えた水溶液のDPPH吸光度変化（ ΔA_{540} ）を実施例17とし、その結果を参考例14と対比させつつ図18に示す。なお、参考例14と実施例17の相違点は、Ptコロイドの添加有無である。

(5-C) ; 実施例の考察

参考例13と実施例16を対比している図17は、Ptコロイドの添加有無を相違点としたpH7.4における水素溶存水のDPPHラジカル消去活性を示す。同図によれば、Ptコロイド無しの参考例13、14では、測定時間（30分間）内で自然退色したと考えられる分だけの吸光度変化がみられる一方、Ptコロイド入りの実施例16、17では、自然退色分を超える明らかなDPPHラジカル消去活性の発現が観察された。なお、pHの相違によるDPPHラジカル消去活性のレベル差はみられなかった。

酵素ヒドログナーゼ触媒添加水素溶存水の還元活性評価試験

次に、本発明に係る水素溶存水に酵素ヒドログナーゼ触媒を加えたとき、同水素溶存水中に含まれる化学的に不活性な分子状水素が活性化することで発現する還元活性評価について、その実施例と参考例をそれぞれ示す。かかる還元活性評価試験では、貴金属コロイド触媒添加水素溶存水の還元活性評価試験と同様に、抗酸化対象として酸化還元色素メチレンブルーを用いる。この場合の還元活性評価原理は、前述した貴金属コロイド触媒でした説明と同様のため、その重複した説明を省略する。

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

(6) メチレンブルーの呈色変化による酵素ヒドロゲナーゼ触媒添加水素溶存水(脱気処理+水素ガス封入処理)の還元活性評価

(6-A) ; 還元活性評価試験手順

上記(2-A)で調製したものと同様に、「基本水7.4」、「基本水9.0」を用意し、これらの基本水7.4および基本水9.0をそれぞれ84mL採取し、1g/L濃度のMB水溶液をそれぞれに4mL加え、121.7μM濃度のMB入り基本水7.4および基本水9.0を各調製する。さらに、これらのMB入り基本水7.4、9.0をそれぞれ50mL採取し、真空ポンプにて10分間脱気した後に水素ガスを10分間封入する操作を3回繰り返す。なお、かかる操作は水素溶存水中における水素以外の気体成分の除去を狙ったものである。一方、125μM濃度のヒドロゲナーゼ溶液を蒸留水で4倍希釈したものを、1mL用のマイクロカプセルに投入し、同カプセルに窒素ガス(不活性ガス)を封入することで酸素を除去する。

このようにして得られた、水素ガス封入済みのMB入り基本水7.4および基本水9.0をそれぞれ3mL採取し、これらを密閉系であらかじめ水素ガス置換した石英セルに投入し、さらに、上述の如く調製したヒドロゲナーゼ溶液を同石英セルに加えたときの、メチレンブルーの吸光度変化(△A572)を測定した。

(6-B) ; 参考例および実施例の開示

(実施例18)

MB入り水素溶存水(MB入り基本水7.4+脱気処理+水素ガス封入処理)に、上述の如く調製したヒドロゲナーゼ溶液を10μL加えた水溶液のメチレンブルー吸光度変化(△A572)を実施例18とし、その結果を図19に示す。

(参考例15)

MB入り水素溶存水(MB入り基本水7.4+脱気処理+水素ガス封入処理)に、ヒドロゲナーゼ溶液を加えていない水溶液のメチレンブルー吸光度変化(△A572)を参考例15とし、その結果を実施例18と対比しつつ図19に示す。なお、実施例18と参考例15の各サンプル水の相違点は酵素ヒドロゲナーゼの添加有無である。

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

(実施例 19)

MB入り水素溶存水 (MB入り基本水 9.0 + 脱気処理 + 水素ガス封入処理) に、上述の如く調製したヒドロゲナーゼ溶液を $10 \mu\text{L}$ 加えた水溶液のメチレンブルー吸光度変化 (ΔA_{572}) を実施例 19 とし、その結果を図 20 に示す。

(参考例 16)

MB入り水素溶存水 (MB入り基本水 9.0 + 脱気処理 + 水素ガス封入処理) に、ヒドロゲナーゼ溶液を加えていない水溶液のメチレンブルー吸光度変化 (ΔA_{572}) を参考例 16 とし、その結果を実施例 19 と対比させつつ図 20 に示す。なお、実施例 19 と参考例 16 の各サンプル水の相違点は酵素ヒドロゲナーゼの添加有無である。

(6-C) ; 実施例の考察

実施例 18、19 の結果を参考例 15、16 と対比させつつ考察すると、実施例 18、19 の触媒添加水素溶存水は、参考例 15、16 と比較して、その pH の差異にかかわらず特異的にメチレンブルーを還元しており、触媒添加水素溶存水だけが大きな還元活性を示しているといえる。なお、メチレンブルー水溶液の青色呈色の有無を目視で確認すると、実施例 18、19 の触媒添加水素溶存水だけが無色透明であり、メチレンブルーの青色消失を視認できた。なお、参考例 15、16 では、メチレンブルーの青色消失は視認できなかった。また、実施例 18、19 の触媒添加水素溶存水では、多量の白色沈殿物 (還元型メチレンブルー) を目視確認できた。

酸化還元色素酸化還元滴定による溶存水素濃度定量分析方法

(A) 発想の経緯

本願出願人が開発した還元電位水生成装置 11 にて電解処理した電解処理水 (電解還元水) には、電解処理時に陰極反応で生成された水素が確かに溶存している。かかる電解処理水中にどの程度の濃度の水素が溶存しているかは、溶存水素計を用いて一応、計測できる。ここで一応と表現したのは、一般に溶存水素計は電極反応における電気化学的物理量をテーブルルックアップ方式で溶存水素濃度に置換するといった計測原理を採用しているため、たとえば被検定水の液性な

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

どの外部要因に依存して計測値が比較的大きく変動する傾向があるからである。

ところで、すでに上述した実施例に基づき説明したとおり、電解処理水に触媒を加えない触媒無添加電解処理水では、例えば酸化型メチレンブルーなどの酸化還元色素（抗酸化対象）を加えても同色素は還元反応特有の呈色変化を示さない一方、電解処理水に触媒を加えた触媒添加電解処理水では、かかる色素を加えると同色素は還元反応特有の呈色変化を示した。つまり、酸化還元色素の酸化還元反応は、（触媒添加電解処理水+酸化還元色素）溶液の呈色変化を観察することを通して視認できた。

かかる実験を試行錯誤しつつ繰り返し行っているなかで、本発明者らは、触媒添加電解処理水が保持している還元力が大きいほど、酸化還元色素メチレンブルーの青色から透明への呈色変化反応が速やかに行われる傾向があることに気づいた。つまり、触媒添加電解処理水が保持している還元力と、加えられた酸化還元色素メチレンブルーを全量還元するのに消費される還元力と、を比較した際ににおいて、前者が後者を上回っているときの両者の差分である還元力の余力の大きさと、酸化還元色素メチレンブルーの呈色変化反応速度とのあいだに、なんらかの相関性があることを見出した。

こうした知見を踏まえて、かかる相関性の産業上利用性につき鋭意研究を進めたところ、本発明者らは、酸化還元色素メチレンブルーの酸化還元反応を通じて、触媒添加電解処理水が有する顯在抗酸化力（溶存水素濃度）を定量分析できるのではないか、と発想するにいたったのである。

(B) 実験目的

触媒添加電解処理水を含む水素溶存水に対して、酸化還元色素メチレンブルーの所定濃度溶液を滴下していくた際ににおいて、かかる滴下後の溶液が還元呈色反応を示さなくなるまで（以下、「等価点」という場合がある。）に加えられたメチレンブルーの合計滴下量が、溶存水素濃度（顯在抗酸化力）定量分析の尺度になることを、以下の実験を通して確認していく。

(C) 実効的な溶存水素濃度定量分析方法の概要

本発明に係る水素溶存水に触媒を加えたとき、同水素溶存水中に含まれる化学

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

的に不活性な分子状水素が活性化することで発現する還元力（抗酸化力）の実効的な量、つまり、実効的な溶存水素濃度DH(mg/L)を定量分析するために、触媒としてPtコロイドを、また、酸化還元色素としてメチレンブルーを用いて、触媒(Ptコロイド)添加水素溶存水に対するメチレンブルーの酸化還元滴定を行った。

(D) 実験手順

基本的な実験手順は、あらかじめいくつかのサンプル水（溶存水素濃度などの諸特性値計測済み）を用意しておき、これらのサンプル水に対して触媒(Ptコロイド)を加えるとともに、メチレンブルーの滴下処理を施してゆく。そして、各々のメチレンブルー合計滴下量等から求められる溶存水素濃度の実効値と、溶存水素計での実測値との相関性の有無を比較評価する。

両者のあいだにもしも相関性があれば、メチレンブルー酸化還元滴定により溶存水素濃度を定量分析すること、および、顕在的抗酸化機能を発現する鍵物質が溶存水素であることの妥当性を客観的にも検証することができると考えられる。

こうした基本的な考え方を踏まえて、まず、既述のPt基準液を40倍濃度に調製した40倍濃度Pt基準液を用意する。同40倍濃度Pt基準液の白金成分の濃度C(Pt)は、計算式 $C(Pt) = 24 g \times 0.04 / 500 mL$ から192mg/Lとなる。

次に、1g/L濃度(体積モル濃度；2677.4μM)のメチレンブルー水溶液と、10g/L濃度(体積モル濃度；26773.8μM)のメチレンブルー水溶液とを用意する。ここで、濃度の異なる2種類のメチレンブルー水溶液を用意したのは、被検定水に溶存しているであろう水素濃度に応じて添加するメチレンブルー溶液の濃度を変えた方が、同溶液の添加量を減らすことができる結果、実験精度の向上を期せるからである。ただし、Pt基準液のPt濃度と、メチレンブルー水溶液のMB濃度は、これのみに限定されず、被検定水に溶存しているであろう水素量などの諸条件に応じて適宜調整すればよい。

次に、上記の如く調製した40倍濃度Pt基準液50mLと、濃度の異なる2種類のメチレンブルー水溶液各50mLとを、それぞれ個別の脱気ビンに採取し、

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

真空ポンプにて10分間脱気した後に窒素ガスを10分間封入する操作を3回繰り返し、窒素ガス置換した40倍濃度Pt基準液とメチレンブルー水溶液とを調製する。かかる操作は、各溶液中における窒素（不活性ガス）以外の気体成分の除去を狙ったものである。

次に、200mLの被検定水を、マグネット式スターラー用の攪拌子とともに、アクリル製のガス不透過性試験器に投入する。この試験器は、本実験のために作成したものであり、アクリル製円筒形状中空チューブの長手方向における一方の端部にアクリル製円形板を接着することで底面を形成するとともに、その開放側を、同チューブの内径よりごく僅かに小径の円形板となる押し子にて長手方向移動自在のピストン式に封止する構造とされている。この試験器の側壁には、同試験器における底面、内側壁、及び押し子により区画される被検定水収容室内に、外部環境から隔離した状態で40倍濃度Pt基準液やMB溶液を注入し得るよう、同試験器における放射方向外側に向けてアクリル製円筒形状中空チューブよりなる溶液注入部が設けられている。そして、この溶液注入部には、シリンドリカル挿入用のゴム栓が着脱自在に設けられている。こうして構成された試験器の被検定水収容室内に被検定水を投入するにあたっては、試験器から押し子を外した状態で被検定水を静かに注ぎ入れたのち、被検定水収容室内に気相が生じないように押し子を装着する。これにより、試験器の被検定水収容室内に被検定水を、外部環境から隔離した状態で閉じ込めておくことができる。また、試験器の被検定水収容室内に40倍濃度Pt基準液やMB溶液を投入するにあたっては、かかる溶液をシリンドリ内において気相が生じないように吸い込み採取し、同シリンドリのニードルを、溶液注入部に装着されたゴム栓に挿入したのち、シリンドリのピストンを押すことで静かに溶液を注入する。なお、ここで開示した試験器はあくまでも一例であって、素材がガス不透過性であること、被検定水収容室を外部環境から隔離できること、被検定水収容室の体積が可変であること、被検定水収容室を気密かつ液密に保てること、40倍濃度Pt基準液やMB溶液などを、被検定水収容室を外部環境から隔離した状態で投入できること、スターラー用の攪拌子が動作可能であること、などの諸条件を満たせば、その他の容器を適宜採用

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

することができる。

次に、上記の被検定水入り試験器を、その底面を下にしてマグネット式スターラー台に置き、攪拌子による攪拌を開始する。

次に、上述の窒素ガス置換した40倍濃度Pt基準液1mLを、シリンジを用いて被検定水収容室に注入し、十分攪拌し混合させる。

次に、上述の窒素ガス置換した所定濃度のメチレンブルー水溶液を、被検定水の呈色変化を目視で観察しながら少量づつシリンジを用いて注入していく。ここで、被検定水の溶存水素濃度がメチレンブルーの投入量よりも上回っていれば、メチレンブルーは還元されて無色になるが、メチレンブルー水溶液の投入量を徐々に増やしていくと、加えたメチレンブルーと被検定水の溶存水素とが相互に打ち消しあって、やがてメチレンブルーの青色から無色への呈色変化が観察できなくなる。このときを等価点とすれば、メチレンブルー水溶液のメチレンブルー濃度と、加えたメチレンブルー水溶液の合計量から、被検定水の溶存水素濃度DHを求めることができる。

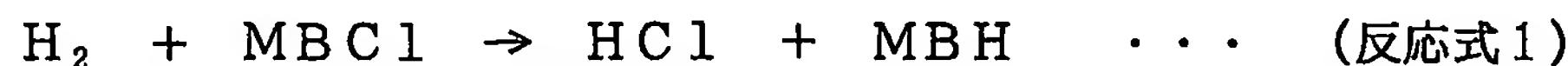
(E) 実効的な溶存水素濃度の求め方

以下に、被検定水に加えたメチレンブルー水溶液の濃度と合計添加量から、被検定水中の実効的な溶存水素濃度DHを求める計算式と、計算式の導出過程と、を示しながら、実効的な溶存水素濃度DHの意味するところを説明する。

まず、以下の説明では、被検定水の体積を200mLとし、被検定水に加えるメチレンブルー水溶液のメチレンブルー体積モル濃度をN($\mu\text{mol/L}$)とする。さらに、等価点に達するまでに加えたメチレンブルー水溶液の総量をA(mL)とすると、加えたメチレンブルー分子の総量B(mol)は、

$$\begin{aligned} B &= N \cdot A (\mu\text{mol/L} \times \text{mL}) \\ &= N \cdot A (\text{mmol}) \quad \dots \quad (\text{式1}) \end{aligned}$$

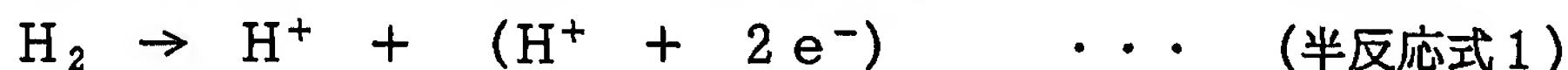
となる。ここで、メチレンブルー分子の化学式をMBClとし、水素分子の化学式をH₂とすると、Ptコロイドにより活性化した水素分子と、メチレンブルー分子との、水溶液中における反応は、次の反応式1で表現される。



WO 03/002466

PCT/JP02/06560

ここで、HClは塩酸であり、MBHは還元型メチレンブルーである。反応式1によれば、1モルの水素分子と、1モルのメチレンブルー分子とが反応して、1モルの還元型メチレンブルー分子が生成している。電子の授受で説明するために、反応式を半反応式で2式に分離して書くと、次のようになる。



半反応式1は、水素分子1モルが2モルの電子を放出することを意味する一方、半反応式2は、メチレンブルー陽イオン1モル、つまり、メチレンブルー分子1モルが2モルの電子を受け取ることを意味している。ここで、水素分子1モルは、電子を2モル放出するから2グラム当量である一方、メチレンブルー陽イオン1モル、つまり、メチレンブルー分子1モルは、電子を2モル受け取るから2グラム当量である。結果的には、水素分子と、メチレンブルー陽イオン、つまり、メチレンブルー分子と、のグラム当量数は、両者ともに同じ2であるから、水素分子とメチレンブルー分子とは、モル比でいえば1対1で反応することになる。

これを踏まえると、上記の被検定水に加えたメチレンブルーの総量Bは、消費された水素分子の総量でもある。

したがって、測定すべき水素分子の総量をC(μmol)とすると、上記の式1から、

$$C = B = N \cdot A (\mu\text{mol}) \quad \dots \quad (\text{式 } 2)$$

となる。さらに、被検定水の体積は200mLであり、被検定水の実効的な水素分子の体積モル濃度 H_2 (mol/L)は、モル数C(mol)を体積(mL)で割った値であるから、

$$\begin{aligned} H_2 (\text{mol/L}) &= C / 200 (\mu\text{mol}/\text{mL}) \\ &= C / 200 (\mu\text{mol}/\text{L}) \quad \dots \quad (\text{式 } 3) \end{aligned}$$

となる。さらに、この単位を質量濃度(g/L)に変換する場合には、相当する水素分子の質量濃度をDとすれば、水素分子 H_2 に関する次の比例式、

$$1 \text{ mol} / 2 \text{ g} = H_2 (\mu\text{mol}/\text{L}) / D \quad \dots \quad (\text{式 } 4)$$

から、この式4に式3を代入すると、

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

$$\begin{aligned} D &= 2 \cdot C / 200 (\mu\text{g}/\text{L}) \\ &= C / 100 (\mu\text{g}/\text{L}) \quad \dots \quad (\text{式5}) \end{aligned}$$

となる。これが、被検定水 200 mL に含まれる、実効的な水素分子の質量濃度である。なお、上記の実効的な水素分子の質量濃度 D は、マイクログラムオーダーであるが、ミリグラムオーダーに変換するには、分子と分母に 1000 を乗じて、

$$\begin{aligned} D &= C \cdot 1000 / 100 \cdot 1000 (\mu\text{g}/\text{L}) \\ &= C \cdot 10^{-5} (\text{mg}/\text{L}) \quad \dots \quad (\text{式6}) \end{aligned}$$

とすればよい。

そうすると、式 2 の関係から、式 6 の水素分子のモル数 C はメチレンブルーの総量 B に置き換えることができるため、

$$D = N \cdot A (\text{m}\mu\text{mol}) \cdot 10^{-5} (\text{mg}/\text{L}) \quad \dots \quad (\text{式7})$$

が成立する。

この式 7 から、被検定水に含まれる実効的な水素分子の質量濃度 D (mg/L) を、メチレンブルー体積モル濃度 N ($\mu\text{mol}/\text{L}$) に、等価点に達するまでに加えたメチレンブルー水溶液の総量 (mL) を乗じることで求めることができる事がわかる。

ところで、被検定水には、ここで定量分析を試みている水素分子（水素ガス）のみならず、各種イオン、酸素分子（酸素ガス）、または二酸化炭素（炭酸ガス）なども溶存している。このうち、被検定水中における酸化還元反応に関与する物質名を例示すると、水素分子以外には、酸素分子、次亜塩素酸塩および次亜塩素酸、などが挙げられる。こうした酸素分子等は、酸化還元反応の中でも、主として酸化剤として作用するのが通常であり、一部の特殊な場合を除いては、還元剤として作用することはない。特に、ここで述べているようなメチレンブルーを還元する試験では、酸素分子等は酸化剤として作用し、メチレンブルーを還元することではなく、逆に、還元型メチレンブルーを酸化して、酸化型メチレンブルーに変えてしまう。つまり、分子状水素の活性化により還元されたメチレンブルーが還元型メチレンブルーとして無色のままか、または、白色沈殿のまま存在してい

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

たとしても、かかる酸素分子等が共存する場合には、再び還元型メチレンブルーを酸化して、もとの酸化型メチレンブルーにもどしてしまうことになる。また、メチレンブルーを介さなくとも、活性化した水素分子と、酸素分子等とが直接反応して、相当量の水素分子の還元力を奪ってしまうため、この相当量のメチレンブルーを還元することはできなくなる。つまり、例えば図21、図22に示すように、水素溶存水中に酸素分子等の酸化物が共存する場合には、これらの量に相当する水素分子の量が消費されて、等価点まで加えられるメチレンブルーの総量も、酸化物の量に応じて減少することになる。

こうしたこと考慮すると、メチレンブルーを用いた定量分析方法で測定される溶存水素濃度とは、溶存酸素などの酸化剤により消費された分の水素濃度を差し引いた実効的な溶存水素濃度であるといえる。

(F) 参考例と実施例の開示

(参考例17)

ミズ株式会社製電解水生成装置「ミニウォーター」(活性炭フィルター搭載)にて標準水量で電解レンジ「4」の電解条件を用いて連続電解処理を行ったアルカリ性電解水を被検定水とし、上述の窒素ガス置換した40倍濃度P_t基準液1mLを、シリングを用いて被検定水収容室に注入して十分攪拌し混合させたあと、同被検定水に1g/L濃度(体積モル濃度; 2677.4 μM)のメチレンブルー水溶液を、被検定水の呈色変化を目視で観察しながら少量づつシリングを用いて注入した。等価点にいたるまでの同メチレンブルー水溶液の総注入量は1mLであり、上記式7に各値を代入して求めた溶存水素濃度D_Hの実測値は0.03(mg/L)であった。本参考例17に係る被検定水の、pH、酸化還元電位ORP(mV)、電気伝導度EC(mS/m)、水温T(°C)、溶存酸素濃度DO(mg/L)、溶存水素濃度DHの実測値(mg/L)、上記式7に各値を代入して求めた溶存水素濃度DHの実測値(mg/L)を表3に示すとともに、DHの実測値と実効値を図23に示す。なお、各種物性値を計測するのに用いた各種計器類としては、先に述べたものと同様のものを使用した。

(参考例18)

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

藤沢市水道水をオルガノ社製イオン交換カラムに通して処理した精製水をいったん沸騰させたあと、水素ガスのバーリング処理を施しながらその温度を20°Cまで冷ました水を被検定水とし、同被検定水200mLに、上述の窒素ガス置換した40倍濃度Pt基準液1mLを、シリンジを用いて被検定水収容室に注入して十分攪拌し混合させたあと、同被検定水に10g/L濃度（体積モル濃度；26773.8μM）のメチレンブルー水溶液を、被検定水の呈色変化を目視で観察しながら少量づつシリンジを用いて注入した。等価点にいたるまでの同メチレンブルー水溶液の総注入量は6.2mLであり、上記式7に各値を代入して求めた溶存水素濃度DHの実測値は1.66(mg/L)であった。本参考例19に係る被検定水の、各種物性値を表3に示すとともに、溶存水素濃度DHの実測値と実効値を図23に示す。

(実施例20)

上述したサンプルiの基本水6.86を毎分1リットルの流速で5A定電流の電解条件にて連続通水式に電解処理した電解処理水を被検定水とし、同被検定水200mLに、上述の窒素ガス置換した40倍濃度Pt基準液1mLを、シリンジを用いて被検定水収容室に注入して十分攪拌し混合させたあと、同被検定水に10g/L濃度（体積モル濃度；26773.8μM）のメチレンブルー水溶液を、被検定水の呈色変化を目視で観察しながら少量づつシリンジを用いて注入した。等価点にいたるまでの同メチレンブルー水溶液の総注入量は5.9mLであり、上記式7に各値を代入して求めた溶存水素濃度DHの実測値は1.58(mg/L)であった。本実施例20に係る被検定水の、各種物性値を表3に示すとともに、溶存水素濃度DHの実測値と実効値を図23に示す。

(実施例21)

上述したサンプルvの基本水9.18を毎分1リットルの流速で5A定電流の電解条件にて連続通水式に電解処理した電解処理水を被検定水とし、同被検定水200mLに、上述の窒素ガス置換した40倍濃度Pt基準液1mLを、シリンジを用いて被検定水収容室に注入して十分攪拌し混合させたあと、同被検定水に10g/L濃度（体積モル濃度；26773.8μM）のメチレンブルー水溶液

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

を、被検定水の呈色変化を目視で観察しながら少量づつシリンジを用いて注入した。等価点にいたるまでの同メチレンブルー水溶液の総注入量は 5. 0 mL であり、上記式 7 に各値を代入して求めた溶存水素濃度 DH の実測値は 1. 34 (mg/L) であった。本実施例 2 1 に係る被検定水の、各種物性値を表 3 に示すとともに、溶存水素濃度 DH の実測値と実効値を図 2 3 に示す。

(実施例 2 2)

和光純薬工業株式会社製の標準緩衝液 4. 01 (フタル酸塩水溶液) を精製水で 10 倍希釈した pH 緩衝水溶液を、毎分 1 リットルの流速で 5 A 定電流の電解条件にて連続通水式に電解処理した電解処理水を被検定水とし、同被検定水 200 mL に、上述の窒素ガス置換した 40 倍濃度 Pt 基準液 1 mL を、シリンジを用いて被検定水収容室に注入して十分攪拌し混合させたあと、同被検定水に 10 g/L 濃度 (体積モル濃度; 26773. 8 μM) のメチレンブルー水溶液を、被検定水の呈色変化を目視で観察しながら少量づつシリンジを用いて注入した。等価点にいたるまでの同メチレンブルー水溶液の総注入量は 6. 3 mL であり、上記式 7 に各値を代入して求めた溶存水素濃度 DH の実測値は 1. 69 (mg/L) であった。本実施例 2 2 に係る被検定水の、各種物性値を表 3 に示すとともに、溶存水素濃度 DH の実測値と実効値を図 2 3 に示す。

(実施例 2 3)

上述したサンプル i の基本水 6. 86 を毎分 1 リットルの流速で 5 A 定電流の電解条件にて連続通水循環式 (循環水量は 0. 8 リットル) に 3 分間にわたり電解処理した循環電解処理水を被検定水とし、同被検定水 200 mL に、上述の窒素ガス置換した 40 倍濃度 Pt 基準液 1 mL を、シリンジを用いて被検定水収容室に注入して十分攪拌し混合させたあと、同被検定水に 10 g/L 濃度 (体積モル濃度; 26773. 8 μM) のメチレンブルー水溶液を、被検定水の呈色変化を目視で観察しながら少量づつシリンジを用いて注入した。等価点にいたるまでの同メチレンブルー水溶液の総注入量は 9. 6 mL であり、上記式 7 に各値を代入して求めた溶存水素濃度 DH の実測値は 2. 57 (mg/L) であった。本実施例 2 3 に係る被検定水の、各種物性値を表 3 に示すとともに、溶存水素濃度 D

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

Hの実測値と実効値を図23に示す。

(実施例24)

上述したサンプルvの基本水9.18を毎分1リットルの流速で5A定電流の電解条件にて連続通水循環式（循環水量は0.8リットル）に3分間にわたり電解処理した循環電解処理水を被検定水とし、同被検定水200mLに、上述の窒素ガス置換した40倍濃度Pt基準液1mLを、シリンジを用いて被検定水収容室に注入して十分攪拌し混合させたあと、同被検定水に10g/L濃度（体積モル濃度；26773.8μM）のメチレンブルー水溶液を、被検定水の呈色変化を目視で観察しながら少量づつシリンジを用いて注入した。等価点にいたるまでの同メチレンブルー水溶液の総注入量は12.3mLであり、上記式7に各値を代入して求めた溶存水素濃度DHの実測値は3.29(mg/L)であった。本実施例24に係る被検定水の、各種物性値を表3に示すとともに、溶存水素濃度DHの実測値と実効値を図23に示す。

(実施例25)

実施例22と同様のpH緩衝水溶液を毎分1リットルの流速で5A定電流の電解条件にて連続通水循環式（循環水量は0.8リットル）に3分間にわたり電解処理した循環電解処理水を被検定水とし、同被検定水200mLに、上述の窒素ガス置換した40倍濃度Pt基準液1mLを、シリンジを用いて被検定水収容室に注入して十分攪拌し混合させたあと、同被検定水に10g/L濃度（体積モル濃度；26773.8μM）のメチレンブルー水溶液を、被検定水の呈色変化を目視で観察しながら少量づつシリンジを用いて注入した。等価点にいたるまでの同メチレンブルー水溶液の総注入量は12.4mLであり、上記式7に各値を代入して求めた溶存水素濃度DHの実測値は3.32(mg/L)であった。本実施例25に係る被検定水の、各種物性値を表3に示すとともに、溶存水素濃度DHの実測値と実効値を図23に示す。

(以下余白)

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

表3

	pH	ORP[mV]	EC[mS/m]	水温T[°C]	DO[mg/L]	DH実測値[mg/L]	DH実効値[mg/L]
参考例17	9.8	-171	17	21.6	2.67	0.18	0.03
参考例18	7.2	-623	99	21.2	0.02	1.34	1.66
実施例20	7.0	-616	99	22.4	1.00	1.06	1.58
実施例21	9.2	-721	46	21.6	1.60	1.03	1.34
実施例22	4.5	-446	64	21.7	1.53	0.81	1.69
実施例23	7.1	-650	98	22.3	0.44	1.36	2.57
実施例24	9.6	-764	54	22.3	0.45	2.20	3.29
実施例25	4.7	-490	67	22.3	0.39	1.69	3.32

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

(G) 実施例の考察

表3および図23によれば、溶存水素濃度DHの実測値と実効値のあいだには、実測値が高いときにはそれに応じて実効値も高くなることから、相応の相関性があることがわかる。また、参考例18、および、実施例20～25の溶存水素濃度DHの実効値は、参考例17のDH実効値と比較して、いずれも1.3(mg/L)を超えるという高い濃度を示した。特に、実施例20～25のDH実効値は、常温(20°C)かつ大気圧下での分子状水素の水への飽和溶解濃度がおよそ1.6(mg/L)であるのに対して、およそ2.5～3.3(mg/L)というきわめて高い濃度を示した。

さて、ここで行った溶存水素濃度の定量分析試験では、いずれもあらかじめ活性炭処理した水(還元剤は添加せず)を使用しており、次亜塩素酸などの塩素系酸化物質はあらかじめ除去されているので、酸化剤として被検定水に残っているものは、酸素分子が主であると考えられる。なお、酸素分子は、活性炭でいったん除去されたとしても、被検定水が大気に触れると速やかに同水中に溶け込んでくるため、なんらかの還元剤を使用しない限りは、活性炭のみで除去することが難しい。

しかしながら、本発明で提案している抗酸化方法を適用する前提では、本願出願人が開発した還元電位水生成装置のように、溶存水素濃度をできるだけ高くする一方で、溶存酸素等の酸化物質濃度をできるだけ低く抑えることが、本発明に係る水素溶存水と触媒の組み合わせに係る抗酸化機能水由来の還元活性、抗酸化活性の発現を期する上で重要である。

そこで、本発明に係る溶存水素水を、本発明に係る酸化還元色素を用いた溶存水素濃度定量方法を用いて求めた溶存水素濃度DHの実効値の観点から定義してみると、本発明に係る溶存水素水としては、1.3以上のDH実効値を示すものが好ましく、さらにいえば、1.4以上、1.5以上、1.6以上、1.7以上、1.8以上、1.9以上、2.0以上、2.1以上、2.2以上、2.3以上、2.4以上、2.5以上、2.6以上、2.7以上、2.8以上、2.9以上、3.0以上、3.1以上、3.2以上、3.3以上(いずれも単位はmg/L)

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

の順序で、溶存水素濃度DH実効値が高いものほど好ましい。これは、本発明に係る水素溶存水と触媒の組み合わせに係る抗酸化機能水由来の還元活性、抗酸化活性の発現を高いレベルで期せるからである。

本知見は、電解処理水を含む水素溶存水における水素濃度定量分析方法と、同水素溶存水がもつ顕在抗酸化力の尺度と、をあらたに提案するものである。また、既存の溶存水素計による溶存水素濃度の計測では、その測定手順や取扱いが煩雑であり、測定精度の点でもじゅうぶんに満足できるものではなく、しかも、そのコストも非常に高価であったのに対し、本発明に係る酸化還元色素を用いた溶存水素濃度定量方法では、その測定手順や取扱いは比較的簡易であり、また、被検定水に含まれる酸化物質を除去すれば、測定精度の点でも分子状水素の粒子の数を酸化還元色素との化学反応を介して直接的に定量分析する原理であるから高精度であり、しかも、そのコストも非常に安価である。

なお、以上説明した実施形態は、本発明の理解を容易にするために記載されたものであって、本発明を限定するために記載されたものではない。したがって、上記の実施形態に開示された各要素は、本発明の技術的範囲に属する全ての設計変更や均等物をも含む趣旨である。

具体的には、たとえば、本発明の概要において、抗酸化対象としての生体細胞に対して、還元電位水に水素酸化還元酵素、ヒドロゲナーゼ、または貴金属コロイドを作用させる旨を例示する一方、抗酸化対象としてのたとえばシリコン基板に対して、還元電位水に紫外線を作用させる旨を例示して説明したが、本発明は、こうした形態のみに限定されるものではない。つまり、抗酸化対象としての生体細胞に対して、還元電位水に紫外線を含む電磁波を作用させたり、または、還元電位水に、紫外線を含む電磁波と、水素酸化還元酵素、ヒドロゲナーゼ、または貴金属コロイドと、を組み合わせて作用させることも可能であるし、また、抗酸化対象としてのたとえばシリコン基板に対して、還元電位水に水素酸化還元酵素、ヒドロゲナーゼ、または貴金属コロイドを作用させたり、または、還元電位水に、水素酸化還元酵素、ヒドロゲナーゼ、または貴金属コロイドと、紫外線を含む電磁波と、を組み合わせて作用させることも可能であるこ

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

とは勿論である。

さらに、本発明の実施形態、参考例、または実施例の説明において、酸化還元色素としてメチレンブルーを例示して説明したが、酸化還元色素としては本例に限定されず、例えば、ニューメチレンブルー、ニュートラルレッド、インジゴカルミン、アシッドレッド、サフラニンT、フェノサフラニン、カブリブルー、ナイルブルー、ジフェニルアミン、キシレンシアノール、ニトロジフェニルアミン、フェロイン、N-フェニルアントラニル酸等が好適に使用できる。

最後に、本発明に係る抗酸化方法を例えれば患者の疾病治療に適用する際の変形例である、水素再圧治療方法について述べる。まず、患者の治療対象部位に、注射ないし点滴等の操作を介してP_tコロイド溶液などの本発明に係る触媒溶液を送り込んでおく。次に、潜涵病などの減圧症の治療に一般に用いられる再圧室内に患者をおいた状態で、室内又は室外において患者の様子を観察しながら、同再圧室内の気圧を徐々に昇圧していく。このとき、再圧室内に供給する気体を、その組成成分分圧比のうち、水素が1～20%程度を占めるように調整しておく。そして、例えは水素：酸素：窒素（その他の気体成分は微量のため無視する。）の分圧比が1：2：7となる2～3絶対気圧の気体雰囲気内に、室内又は室外において患者の様子を観察しながら約1時間程度患者をおき、その後、昇圧時と同様に、または昇圧時よりも長い時間をかけて徐々に大気圧まで減圧していく。この間、患者の生体内における治療対象部位（抗酸化対象）では、患者の肺呼吸や皮膚呼吸などを通じて生体液（水素溶存水）内に含まれる水素と、あらかじめ送り込まれていた触媒とが、同対象部位においてめぐりあい、同対象部位にあまねく電子が与えられる。この水素再圧治療方法によれば、同対象部位の治療効果を期することができる。

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

請求の範囲

1. 水素溶存水に触媒を作用させる過程を通じて、該水素溶存水中に含まれる基質としての分子状水素を、生成物としての活性水素に分解する反応を促進させることにより、電子の欠乏に起因して酸化状態にあるか、または酸化から防衛したい抗酸化対象を、電子が充足された還元状態にすることを特徴とする抗酸化方法。
2. 前記水素溶存水とは、水素を含有している水全般であって、隔膜を介して陽極と陰極間で原水を電解処理したときに陰極側で生成されるアルカリ性電解水、または、原水に水素をバーリングないし加圧充填などして処理した水を含むことを特徴とする請求項1記載の抗酸化方法。
3. 前記水素溶存水とは、ORPが負の値を持ち、かつ、pHに対応するORP値が、ネルンストの式； $ORP = -59pH - 80\text{ (mV)}$ にしたがう値を下回る値を示す還元電位水であることを特徴とする請求項1記載の抗酸化方法。
4. 前記水素溶存水中には、亜硫酸塩、チオ硫酸塩、アスコルビン酸、アスコルビン酸塩を含む群から選択される少なくとも1つの還元剤が必要に応じて添加されていることを特徴とする請求項1乃至3の何れかに記載の抗酸化方法。
5. 前記触媒とは、前記水素溶存水中に含まれる基質としての分子状水素を、生成物としての活性水素に分解する反応を触媒する水素酸化還元酵素または貴金属コロイドであることを特徴とする請求項1乃至4の何れかに記載の抗酸化方法。
6. 前記水素酸化還元酵素とは、ヒドログナーゼであることを特徴とする請求項5記載の抗酸化方法。
7. 前記触媒とは、可視光線、紫外線、または、電子線を含む群から選択される少なくとも1つの電磁波であることを特徴とする請求項1乃至4の何れかに記載の抗酸化方法。
8. 前記電磁波は、300nm以下程度の短波長の電磁波であることを特徴とする請求項7記載の抗酸化方法。

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

9. 前記抗酸化対象とは、電子の欠乏に起因して酸化状態にあるか、または酸化から防御したい対象物全般であって、生体細胞、または、工業用洗浄、食品洗浄ないし精密洗浄などの各産業分野における被洗浄対象物を含むことを特徴とする請求項 1 乃至 8 の何れかに記載の抗酸化方法。

10. 水素溶存水に、この水素溶存水中に含まれる基質としての分子状水素を、生成物としての活性水素に分解する反応を触媒する水素酸化還元酵素または貴金属コロイドが添加されていることを特徴とする抗酸化機能水。

11. 水素溶存水に、この水素溶存水中に含まれる基質としての分子状水素を、生成物としての活性水素に分解する反応を触媒するヒドロゲナーゼが添加されていることを特徴とする抗酸化機能水。

12. 前記触媒には、該触媒の反応時間を調整するための処理または操作が施されていることを特徴とする請求項 10 又は 11 に記載の抗酸化機能水。

13. 前記水素溶存水とは、水素を含有している水全般であって、隔膜を介して陽極と陰極間で原水を電解処理したときに陰極側で生成されるアルカリ性電解水、または、原水に水素をバーリングないし加圧充填などして処理した水を含むことを特徴とする請求項 10 乃至 12 の何れかに記載の抗酸化機能水。

14. 前記水素溶存水とは、O R P が負の値を持ち、かつ、p H に対応するO R P 値が、ネルンストの式； $O R P = - 5 9 p H - 8 0 \text{ (mV)}$ にしたがう値を下回る値を示す還元電位水であることを特徴とする請求項 10 乃至 12 の何れかに記載の抗酸化機能水。

15. 前記水素溶存水中には、亜硫酸塩、チオ硫酸塩、アスコルビン酸、アスコルビン酸塩を含む群から選択される少なくとも 1 つの還元剤が必要に応じて添加されていることを特徴とする請求項 10 乃至 14 に記載の抗酸化機能水。

16. 請求項 5 に記載の抗酸化方法において用いるように調製されることを特徴とする水素酸化還元酵素。

17. 請求項 5 に記載の抗酸化方法において用いるように調製されることを特徴とする貴金属コロイド。

18. 請求項 6 に記載の抗酸化方法において用いるように調製されること

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

を特徴とするヒドロゲナーゼ。

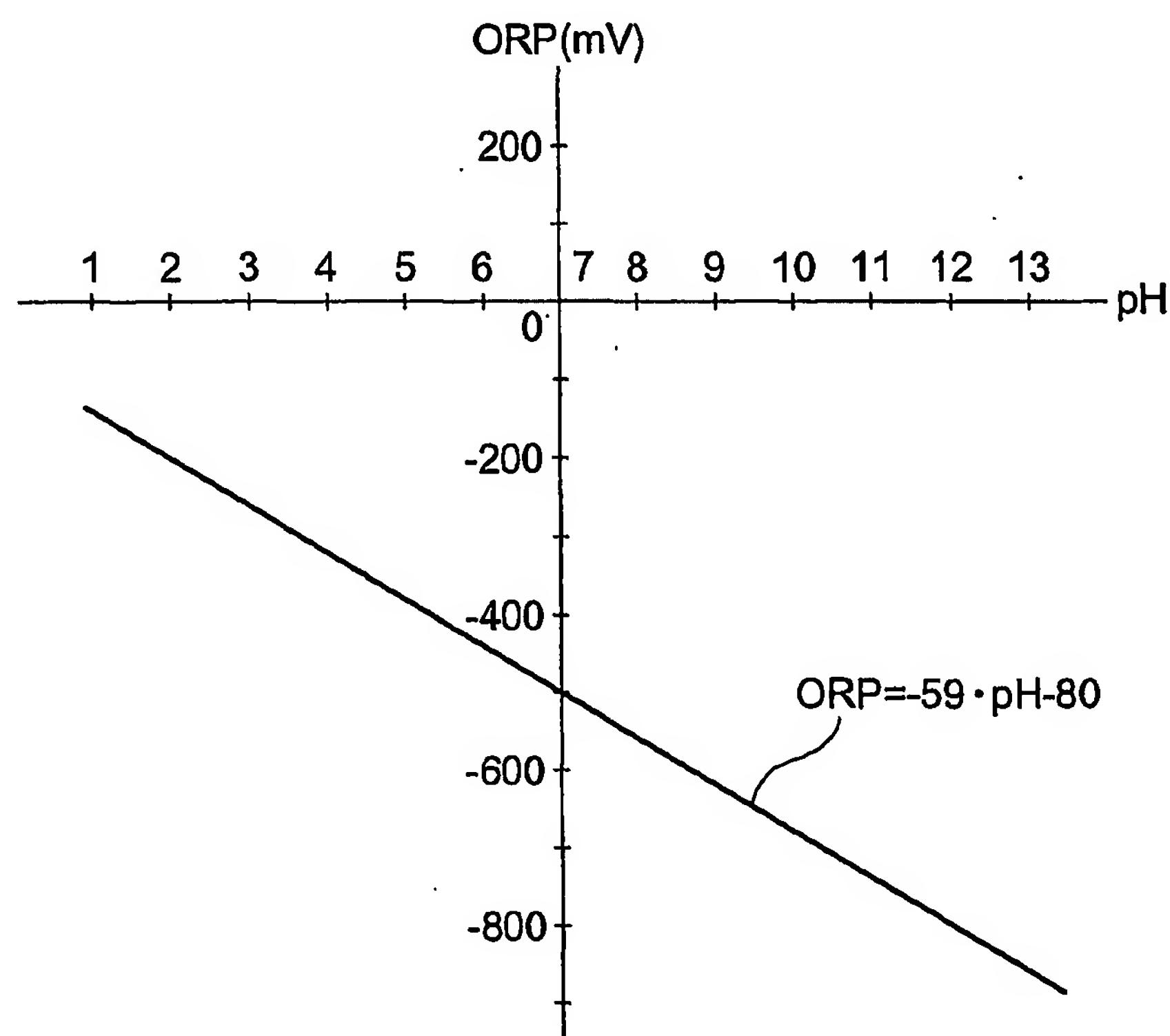
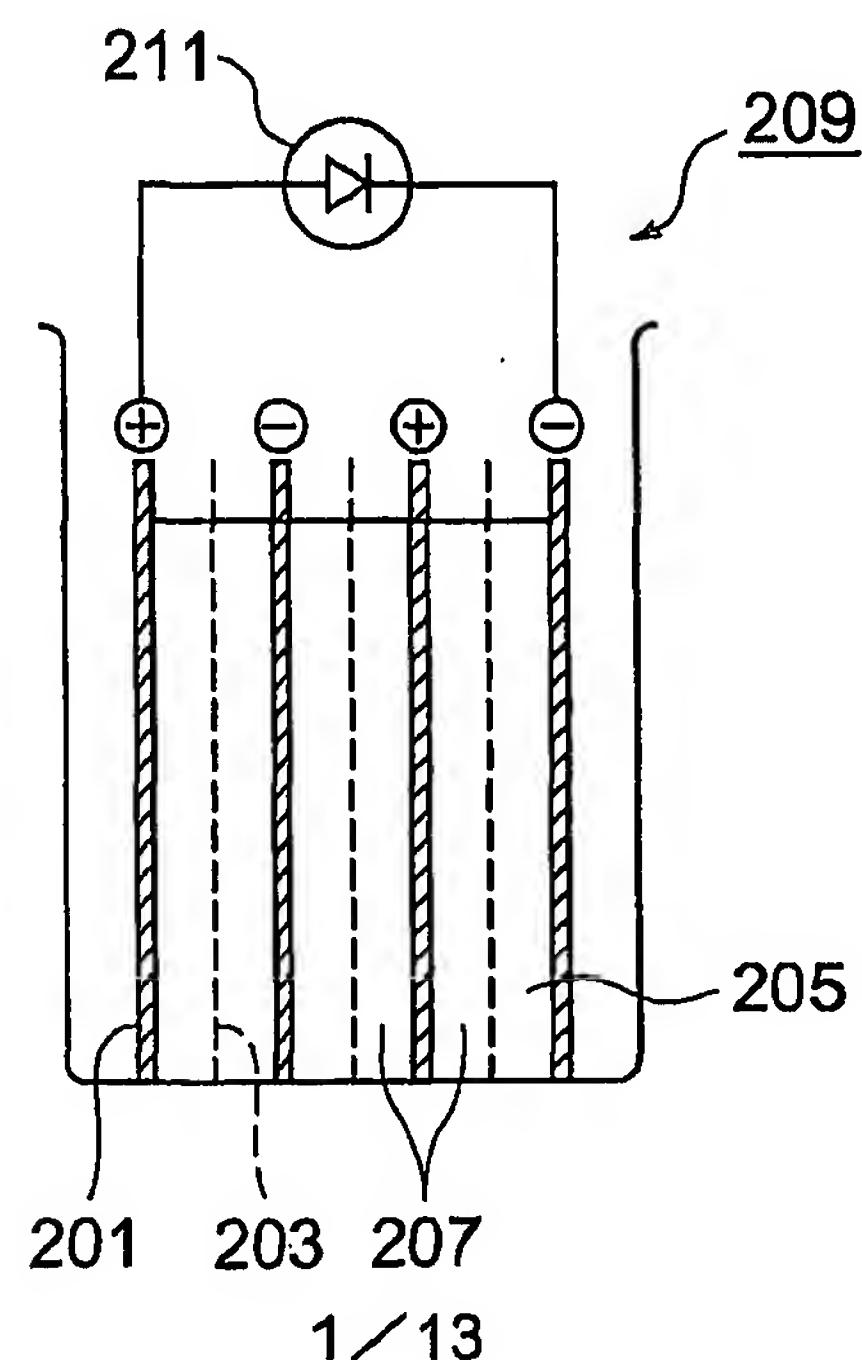
19. 請求項5乃至8の何れかに記載の抗酸化方法を用いて抗酸化環境下で被洗浄物を洗浄することを特徴とする洗浄方法。

20. 請求項5乃至8の何れかに記載の抗酸化方法を用いて抗酸化環境下で被洗浄物を洗浄することを特徴とする洗浄システム。

21. 請求項10乃至14の何れかに記載の抗酸化機能水を主成分として、飲用、注射用、点滴用、透析用、化粧用を含む各用途で生体に用いるように調製されることを特徴とする生体適用液。

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

FIG. 1**FIG. 2**

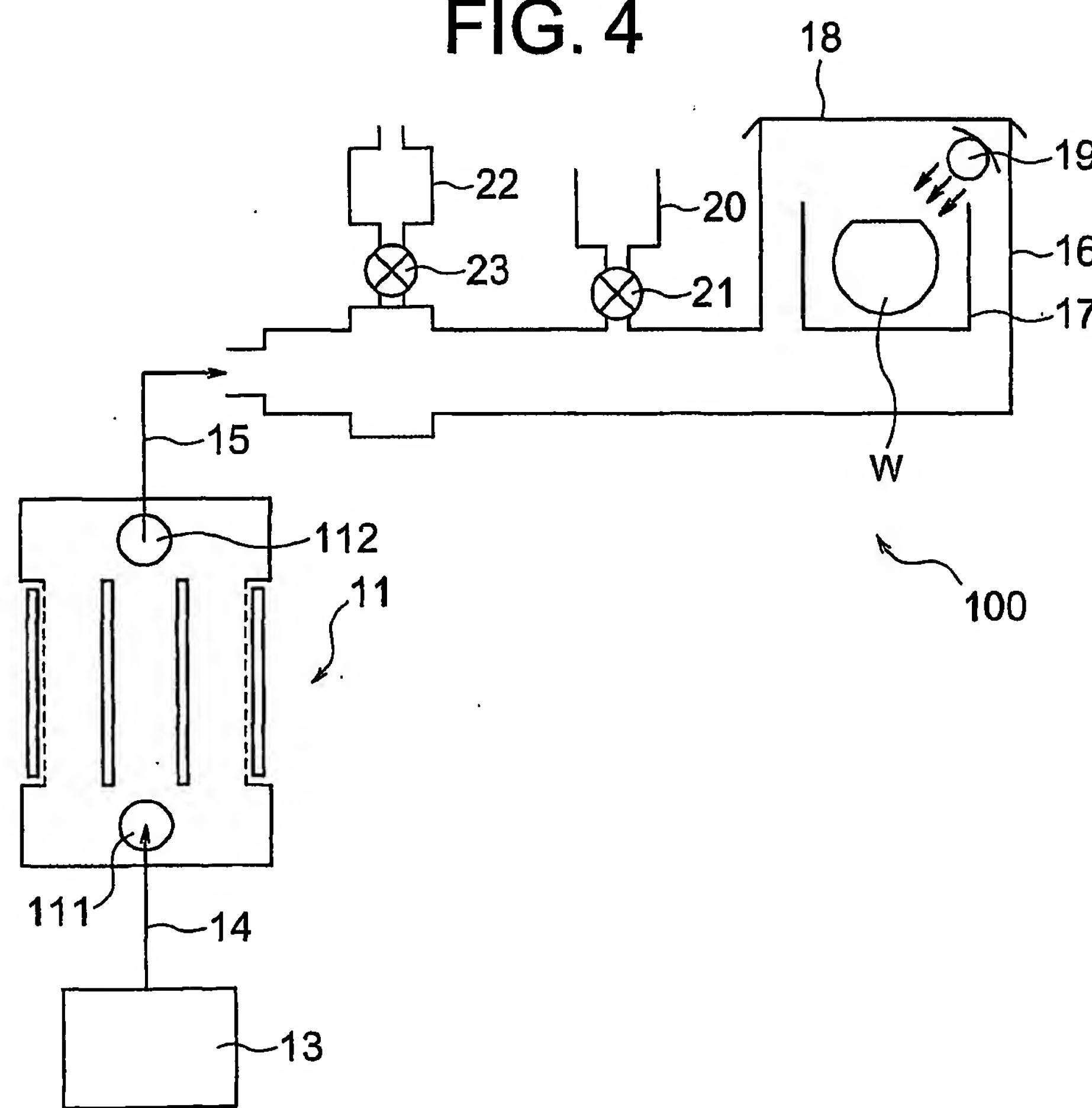
WO 03/002466

PCT/JP02/06560

FIG. 3



FIG. 4



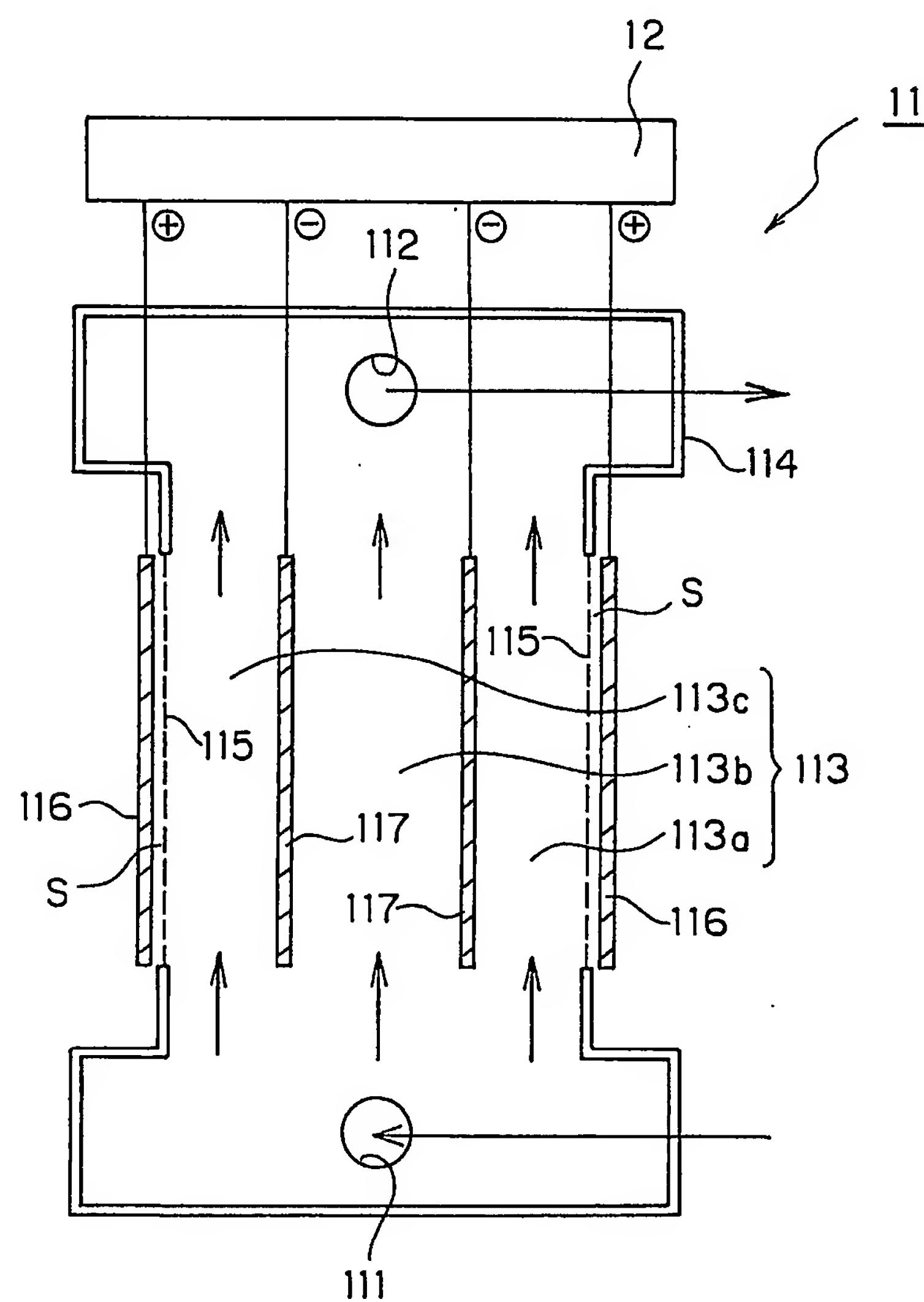
2/13

差替え用紙(規則26)

WO 03/002466

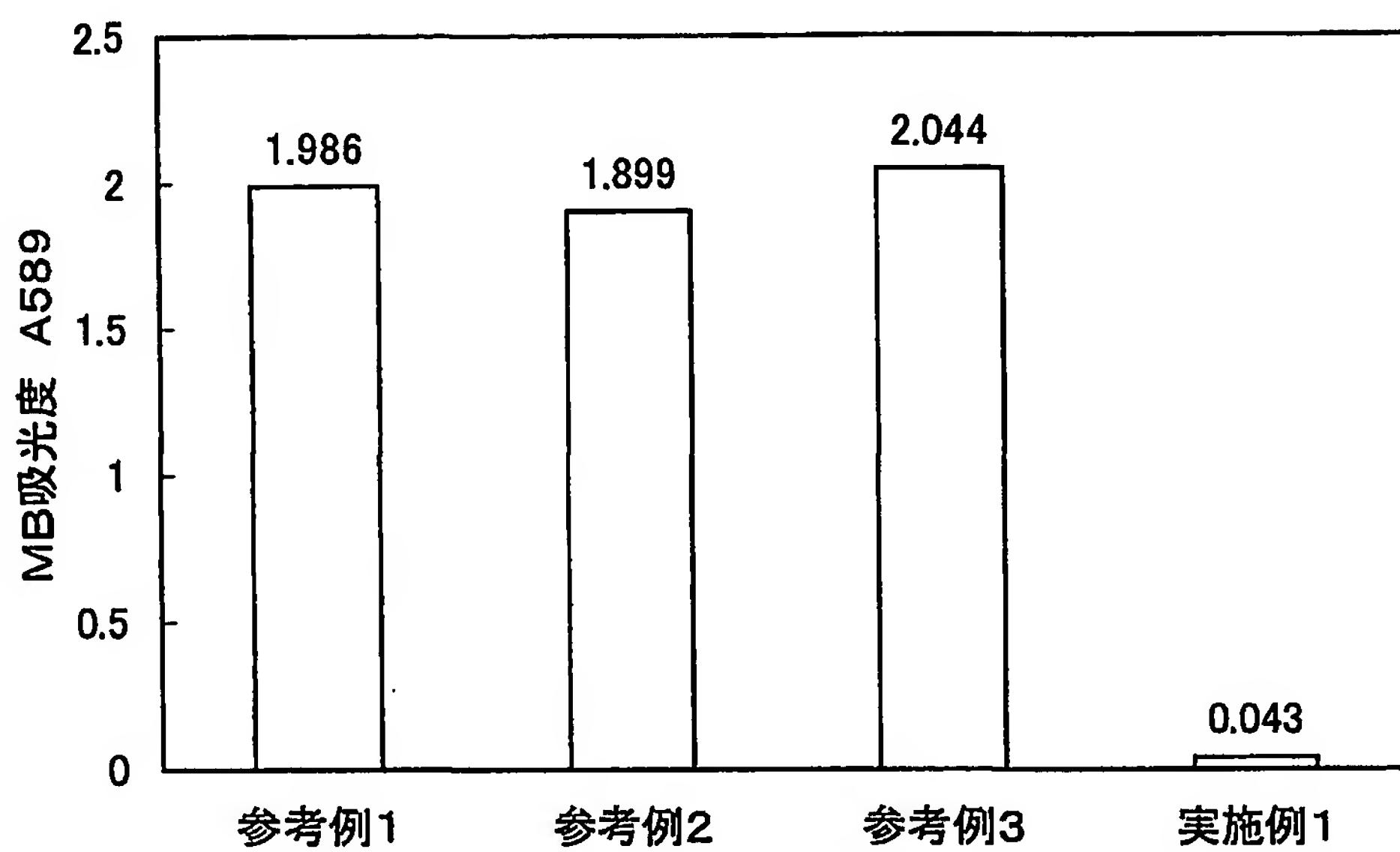
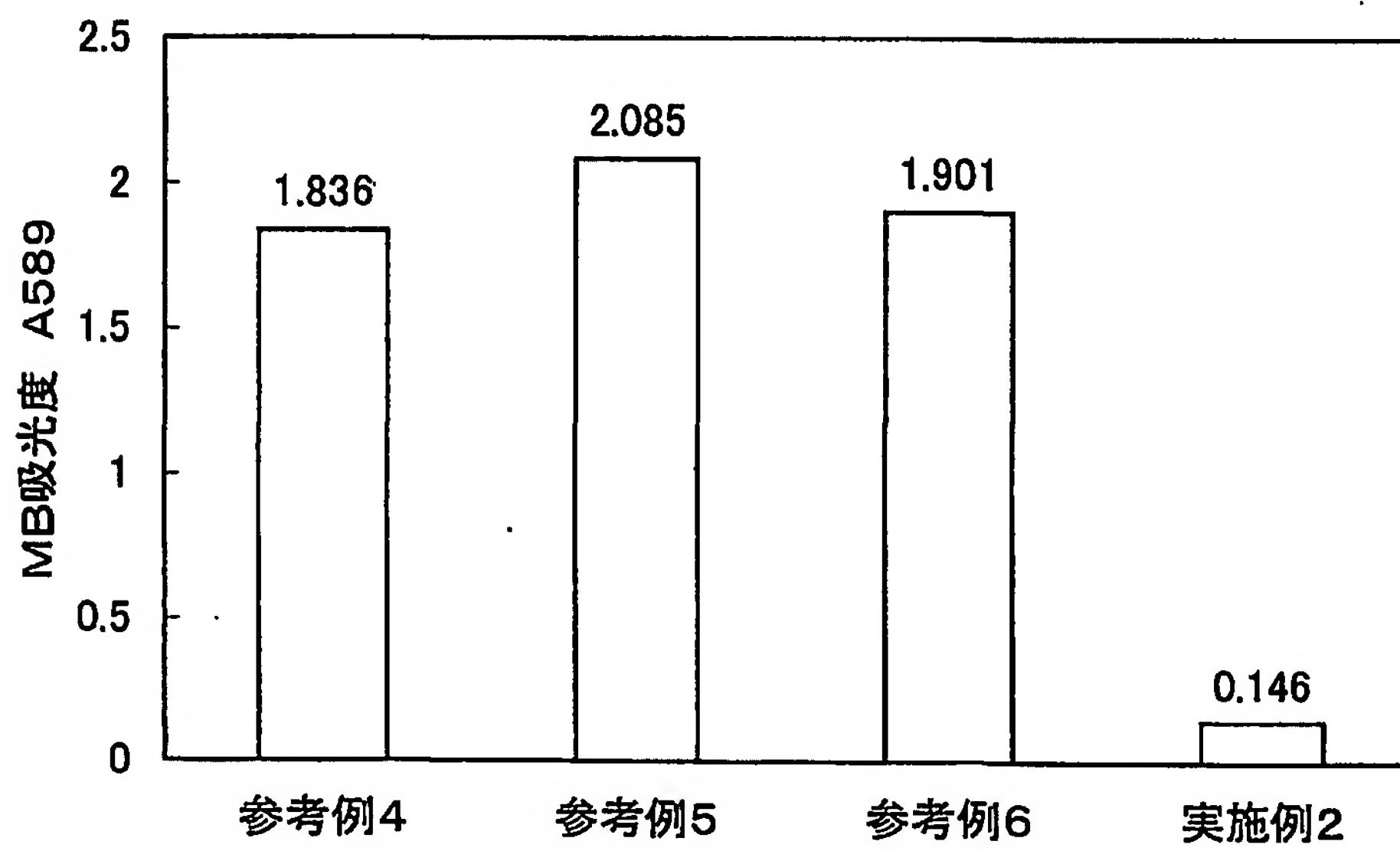
PCT/JP02/06560

FIG.5



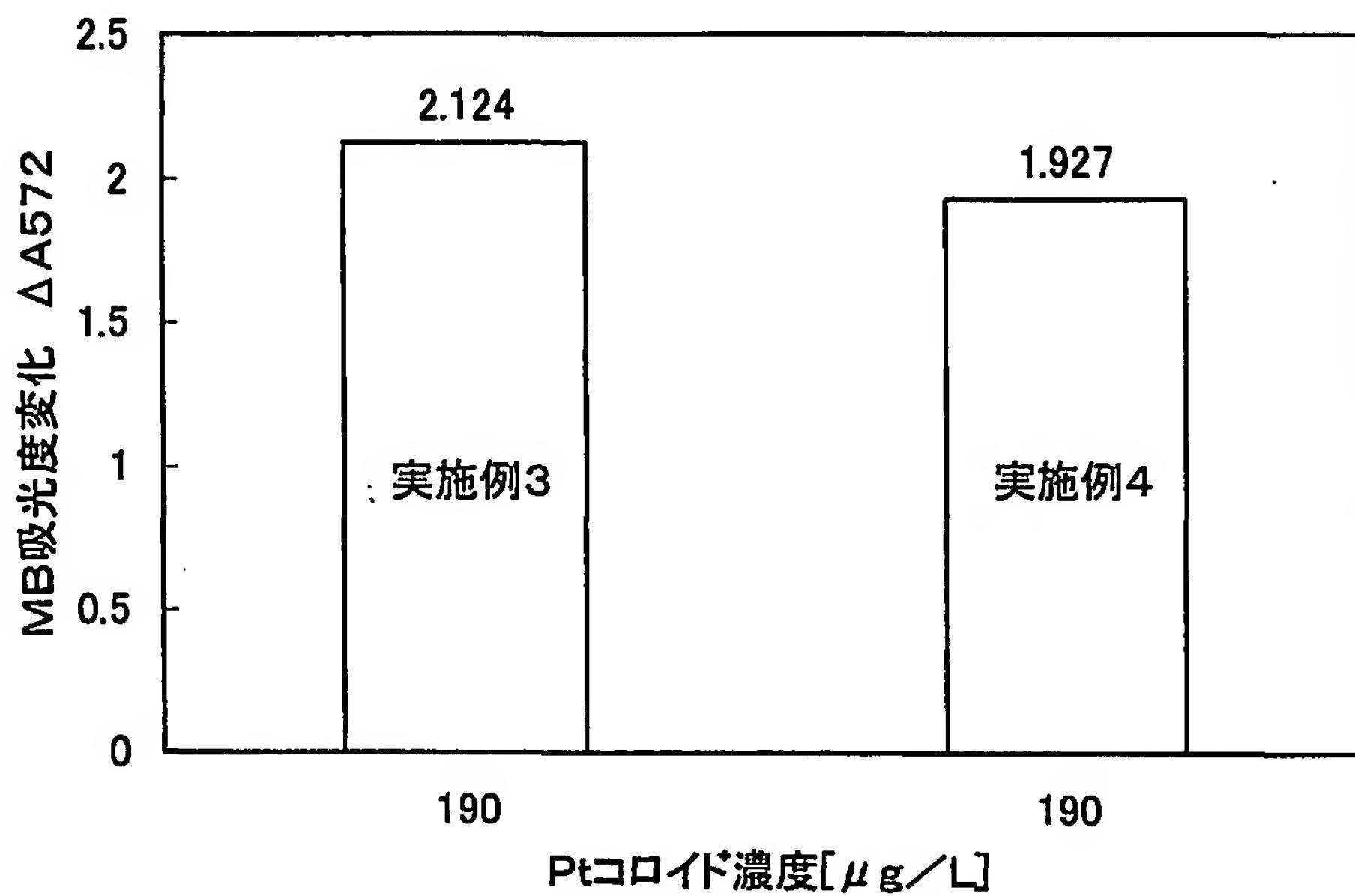
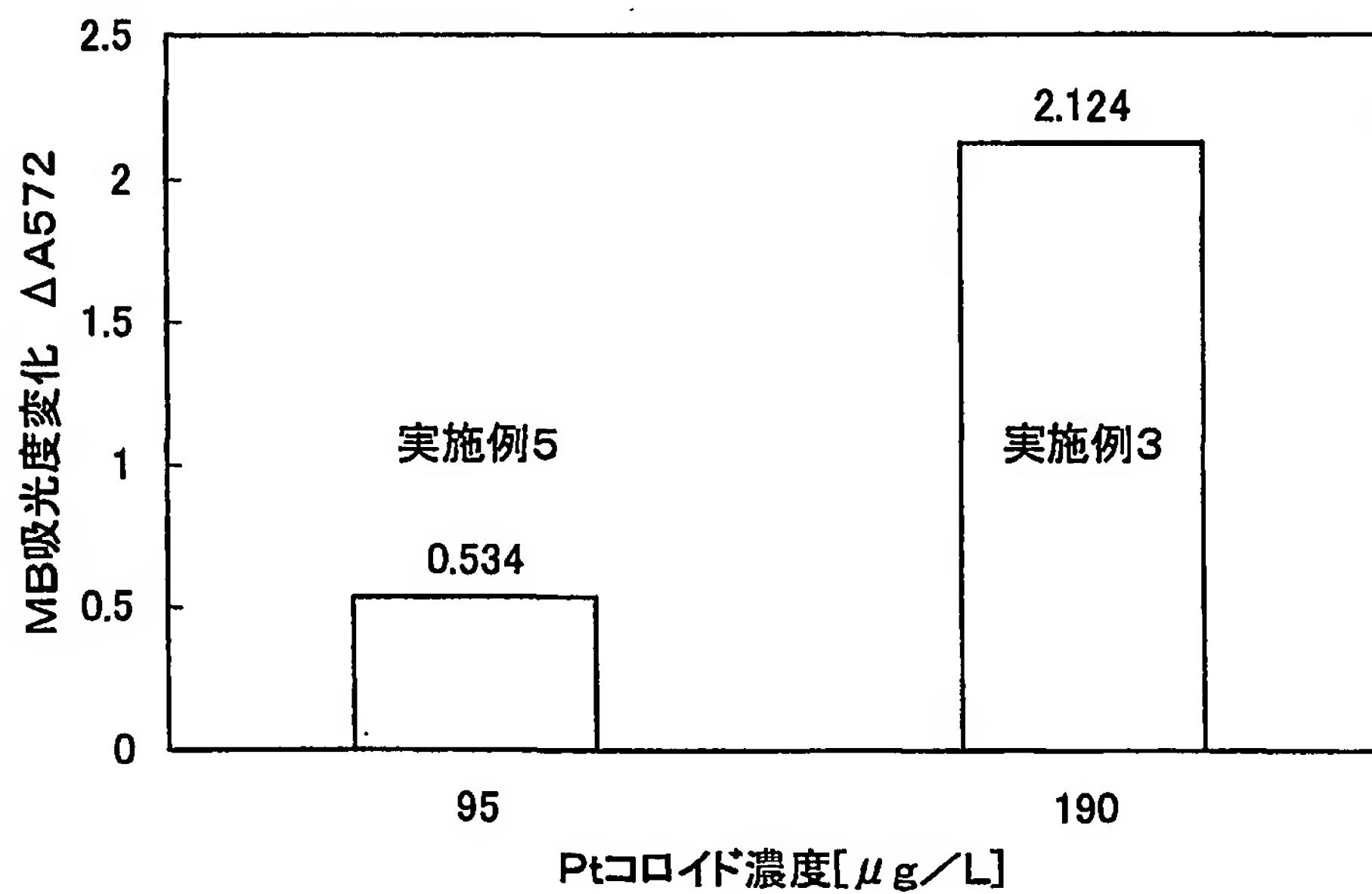
WO 03/002466

PCT/JP02/06560

FIG.6**FIG.7**

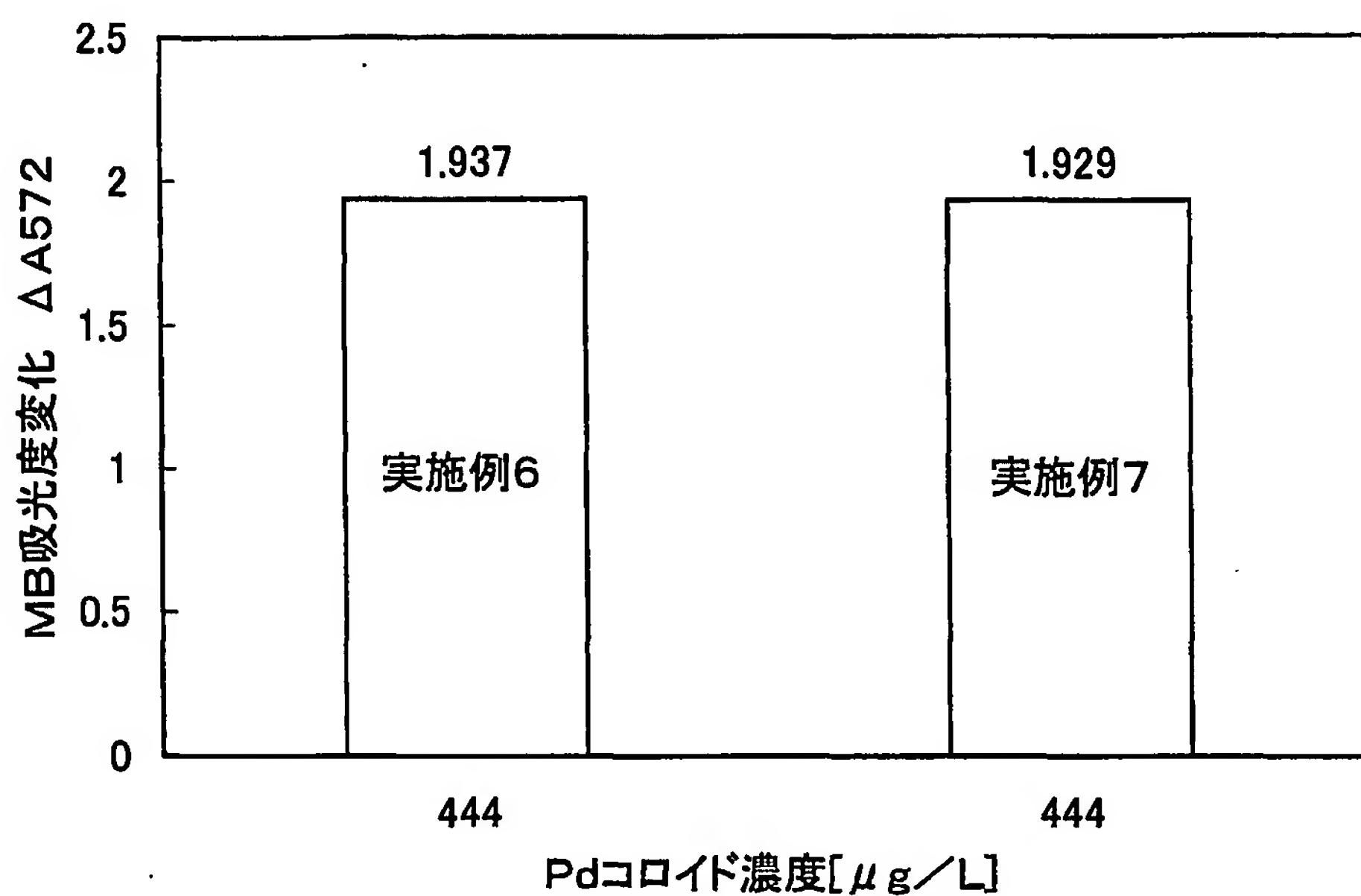
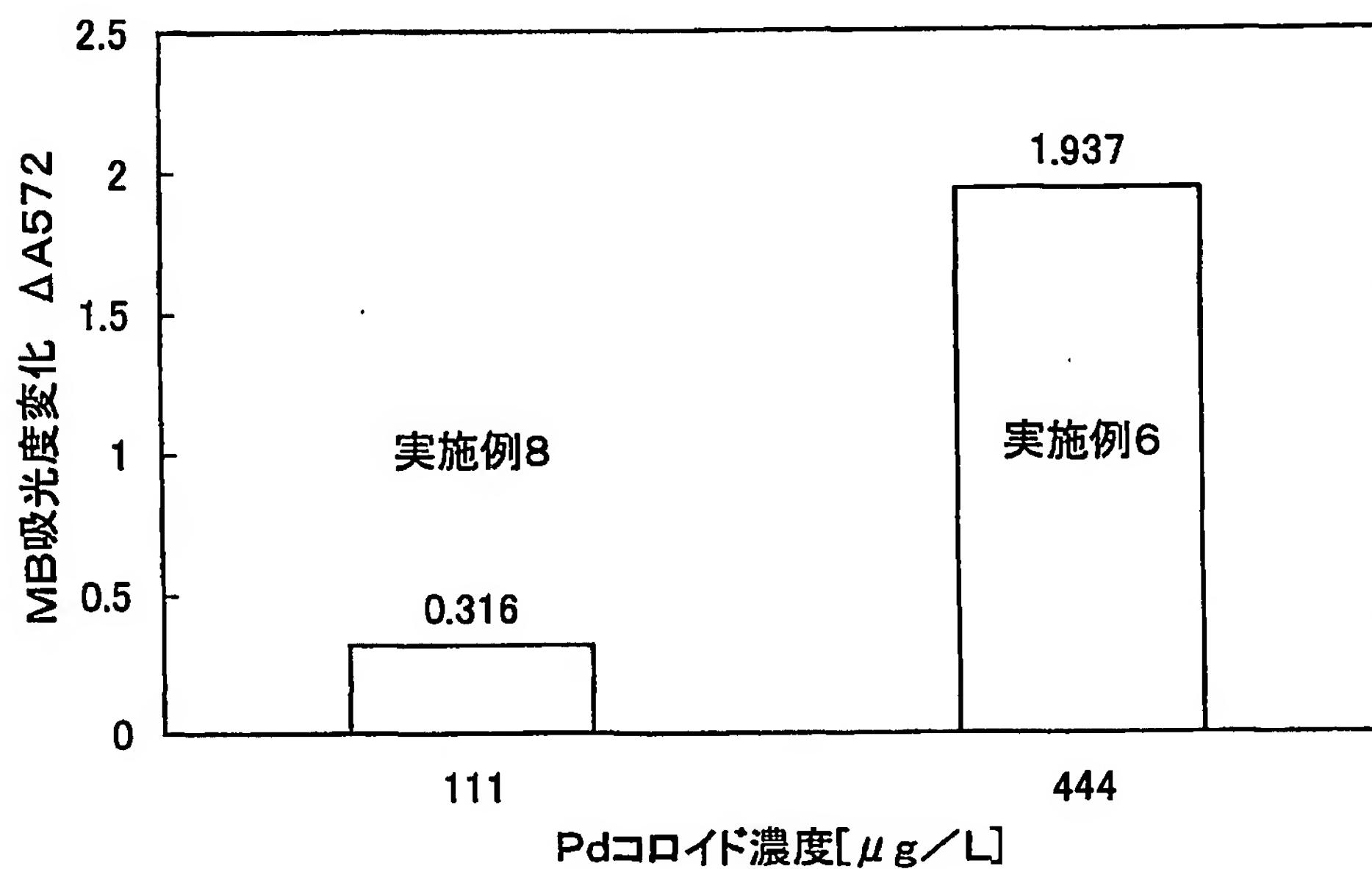
WO 03/002466

PCT/JP02/06560

FIG.8**FIG.9**

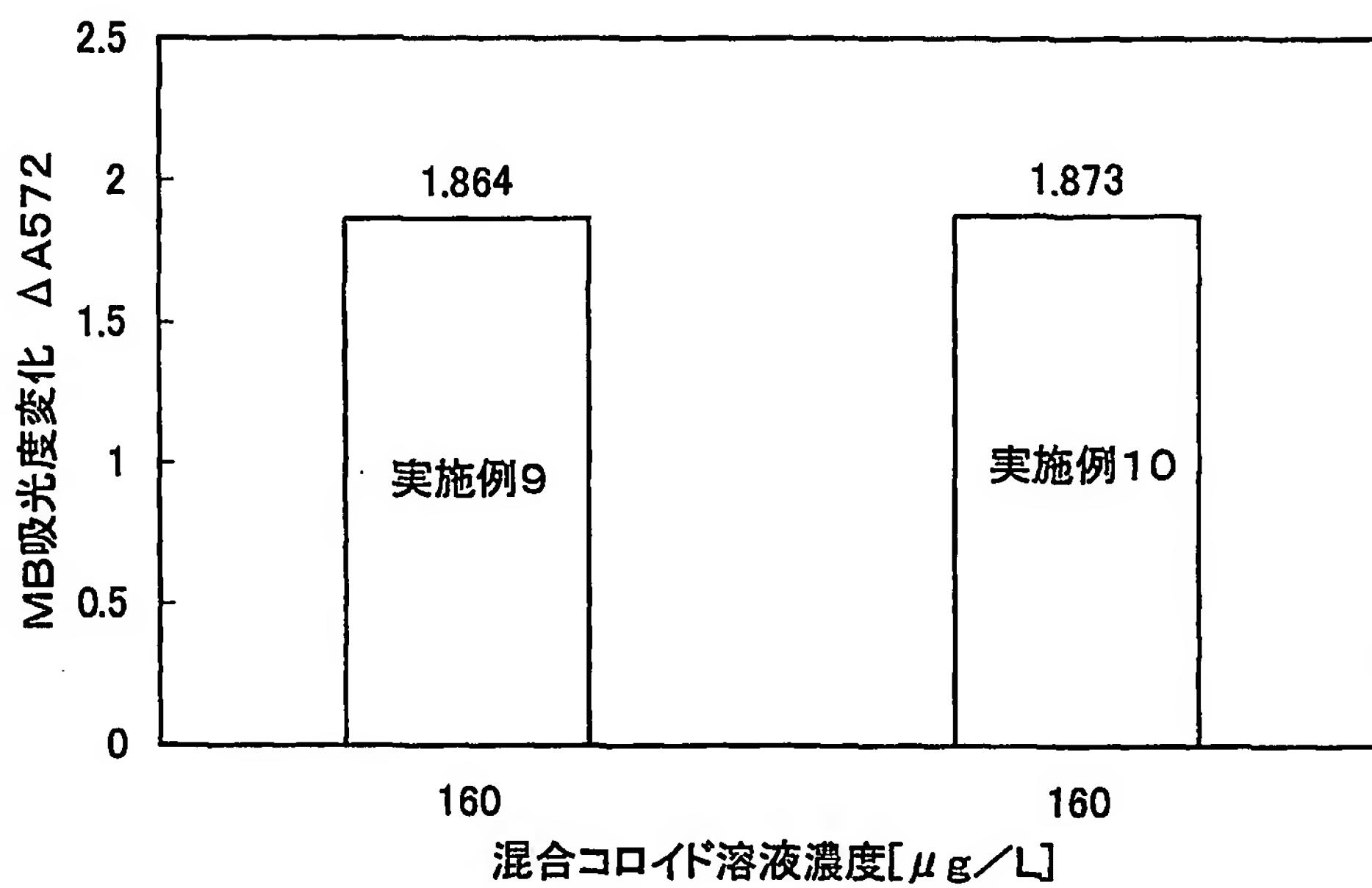
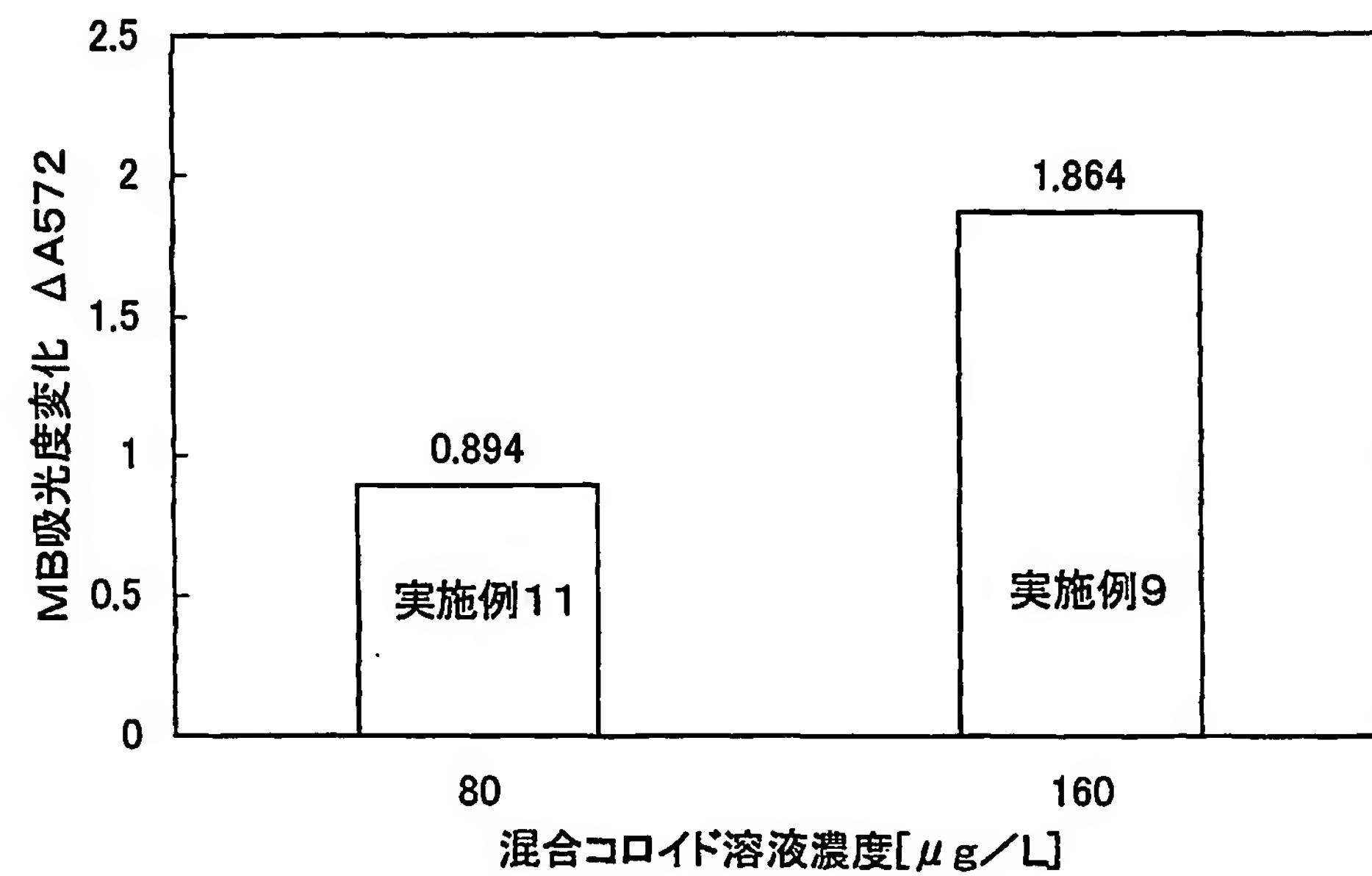
WO 03/002466

PCT/JP02/06560

FIG.10**FIG.11**

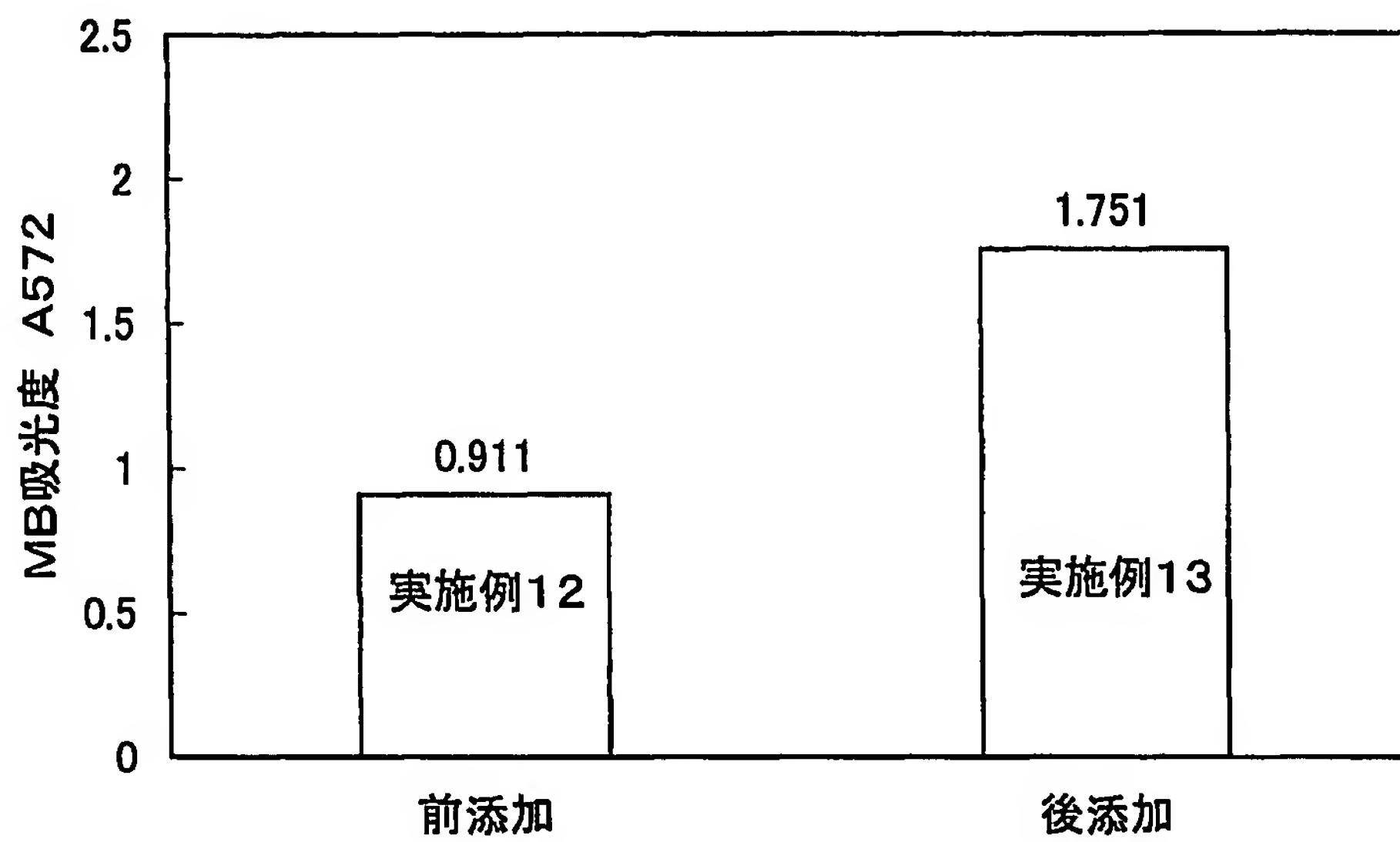
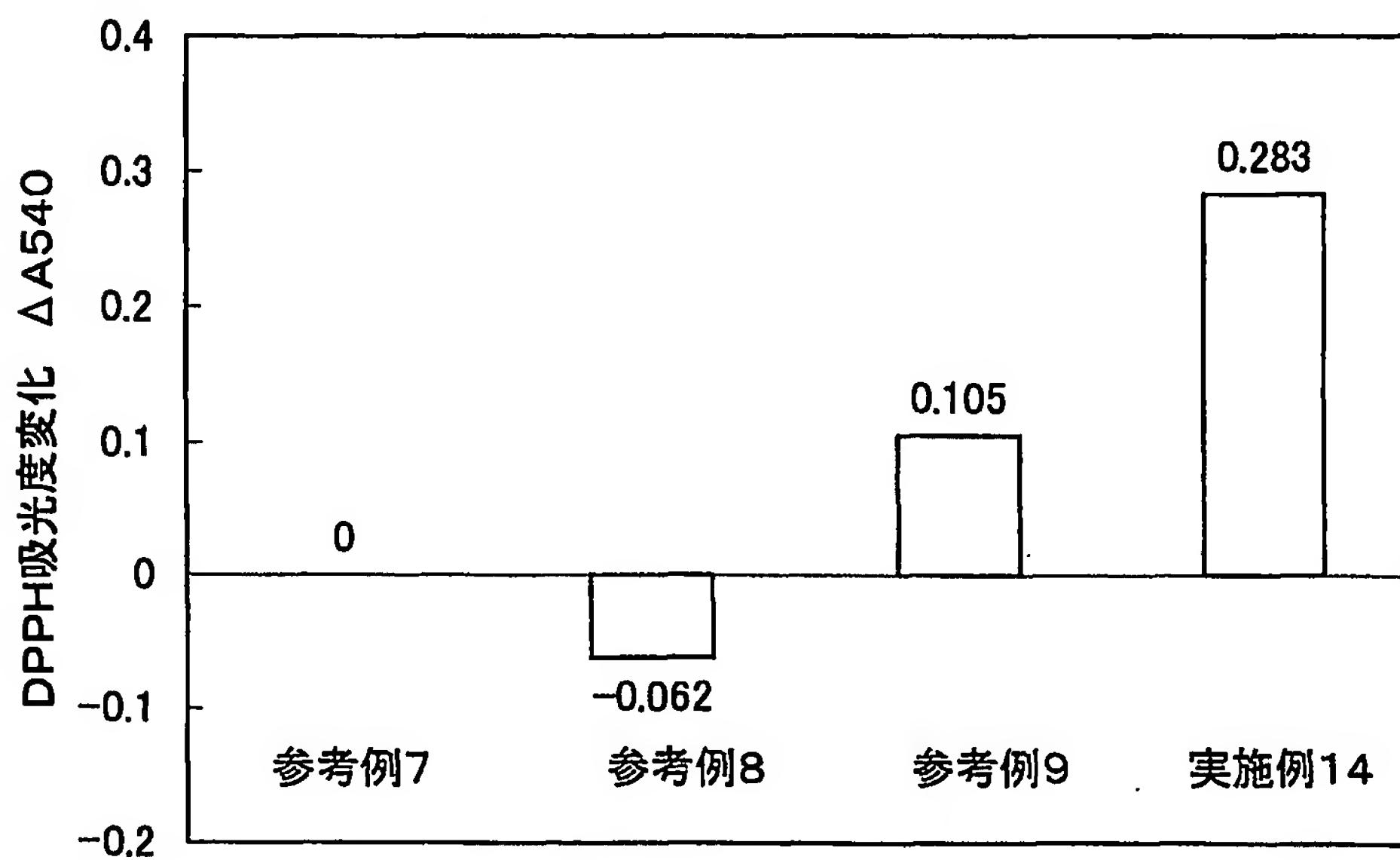
WO 03/002466

PCT/JP02/06560

FIG.12**FIG.13**

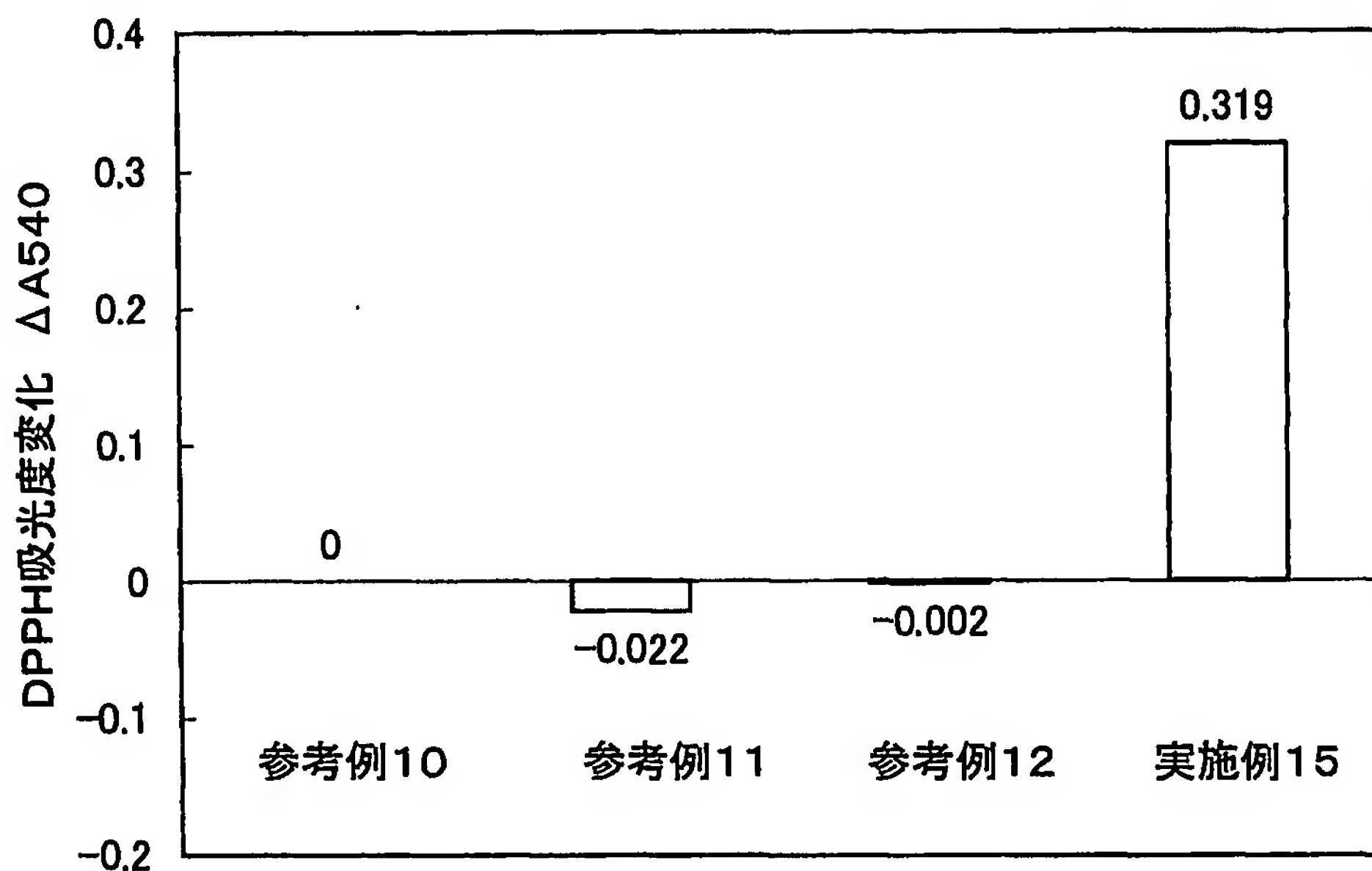
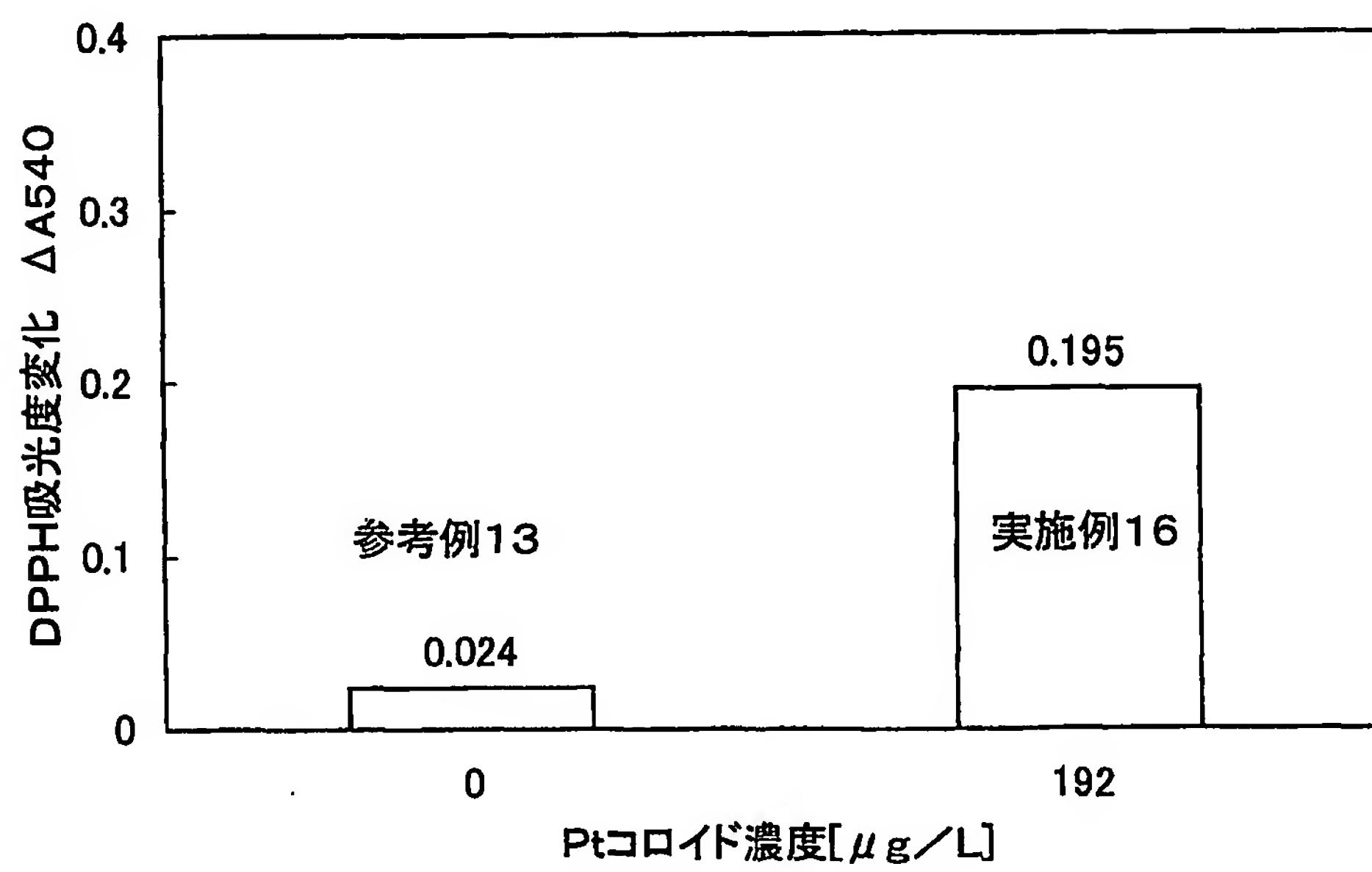
WO 03/002466

PCT/JP02/06560

FIG.14**FIG.15**

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

FIG.16**FIG.17**

WO 03/002466

PCT/JP02/06560

FIG.18

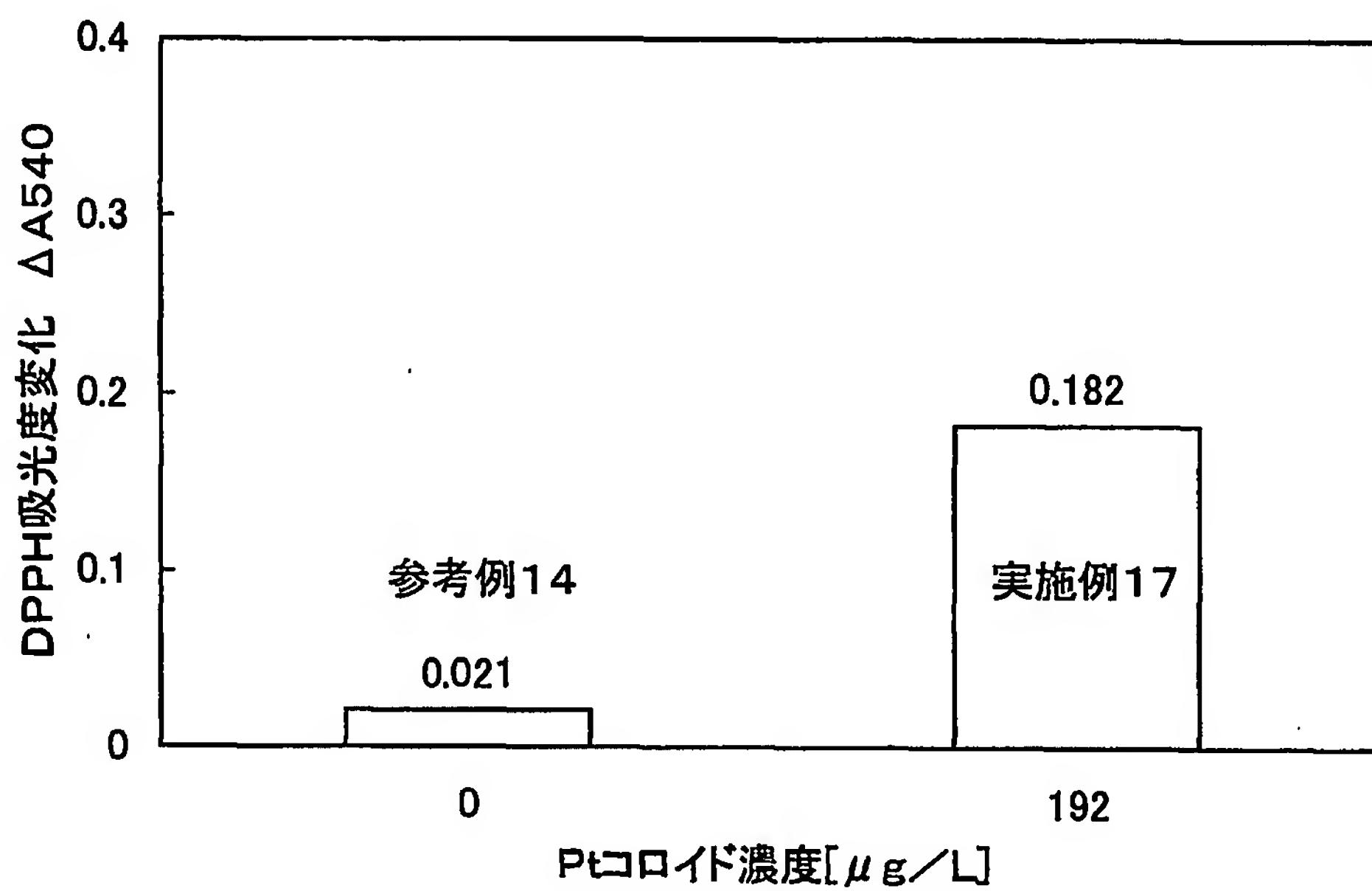
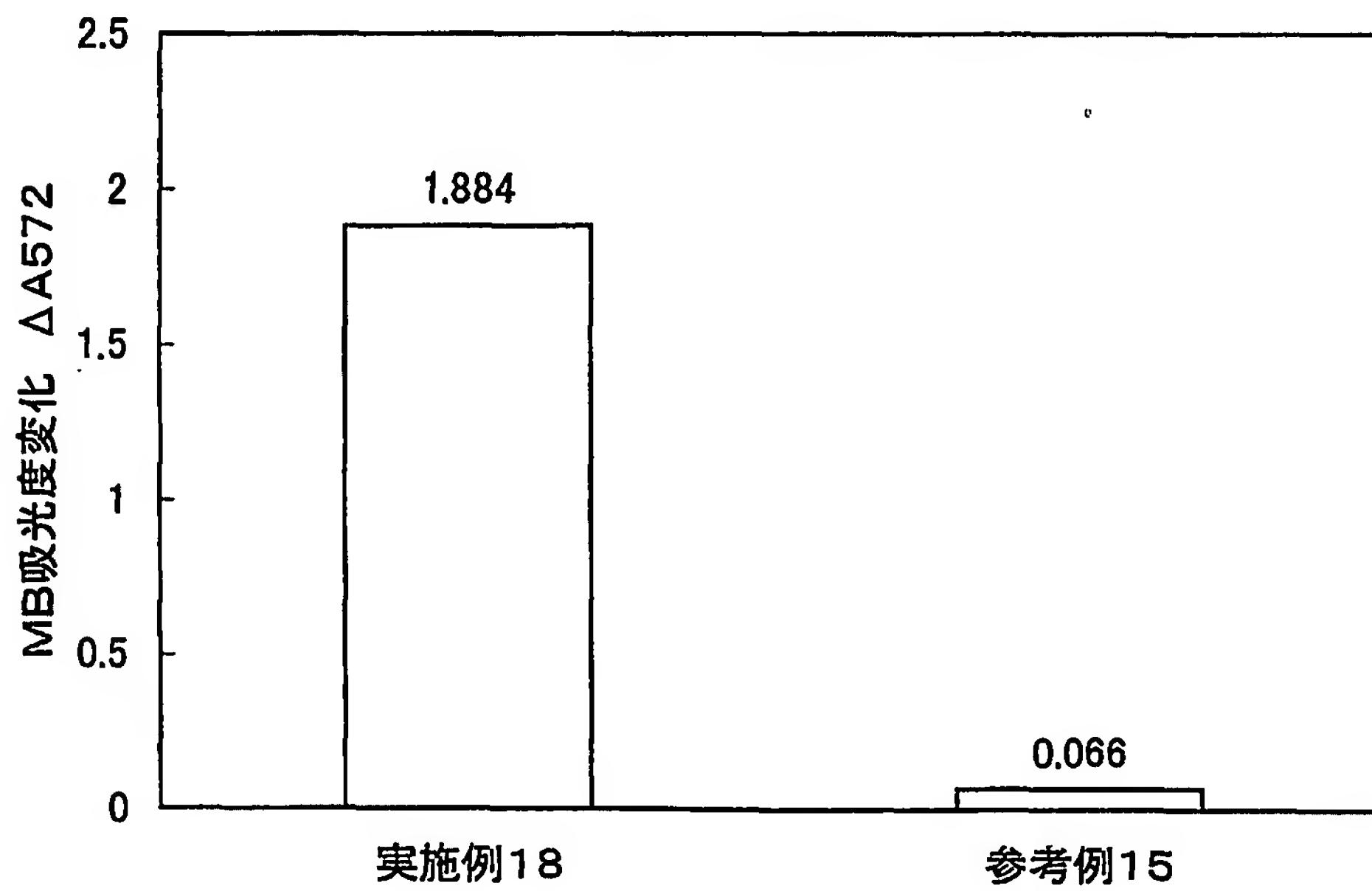


FIG.19



WO 03/002466

PCT/JP02/06560

FIG.20

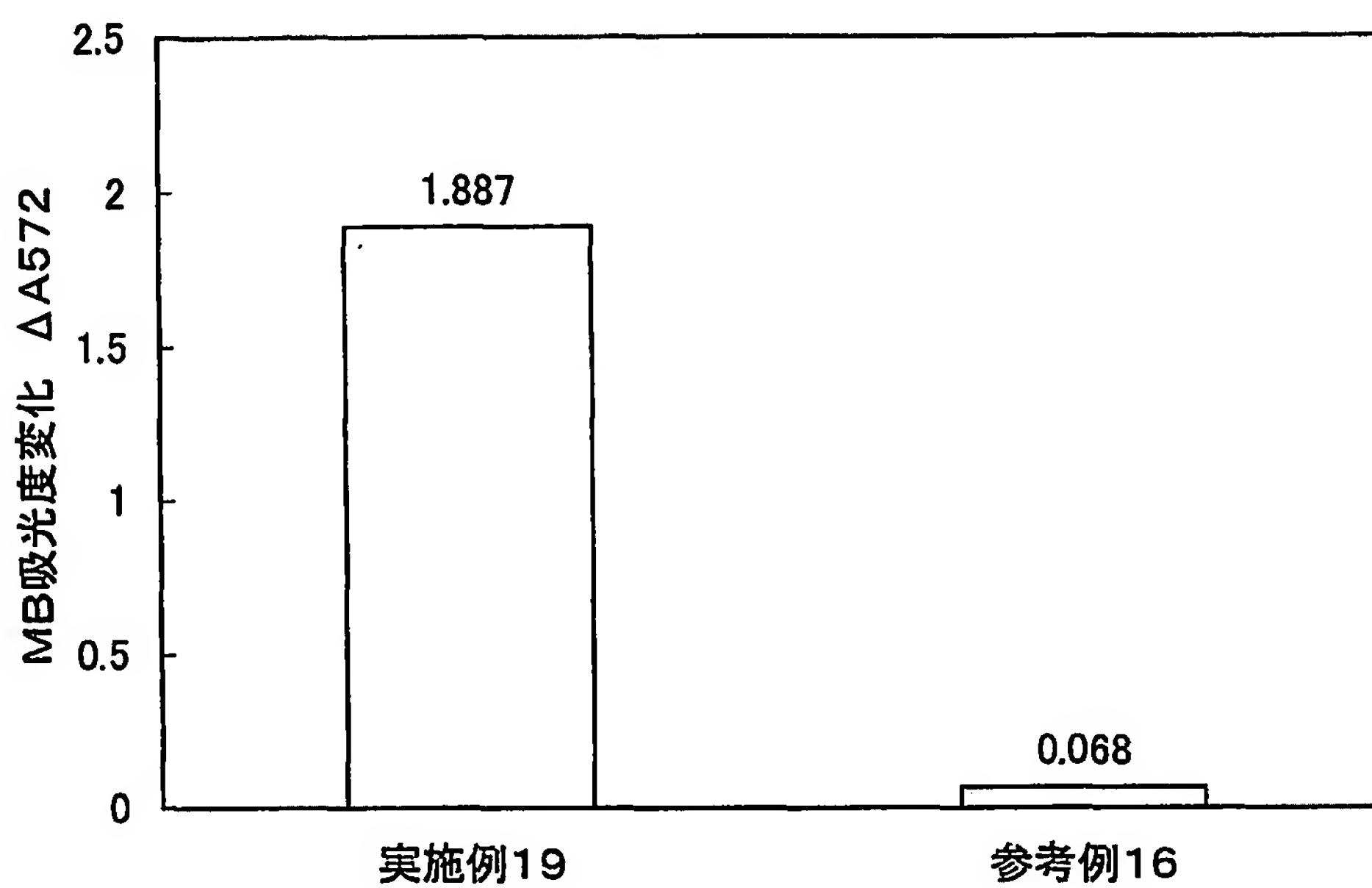
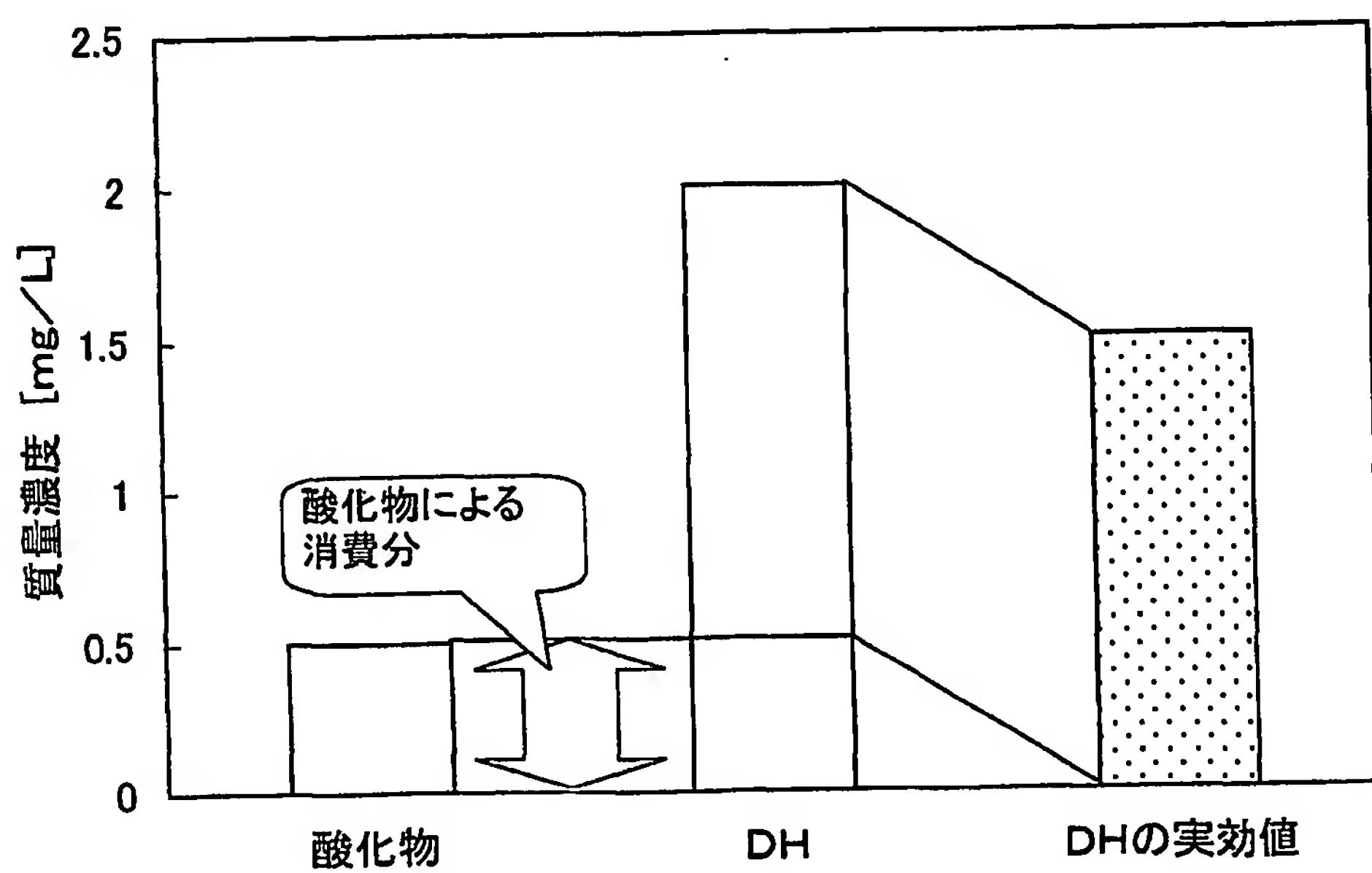


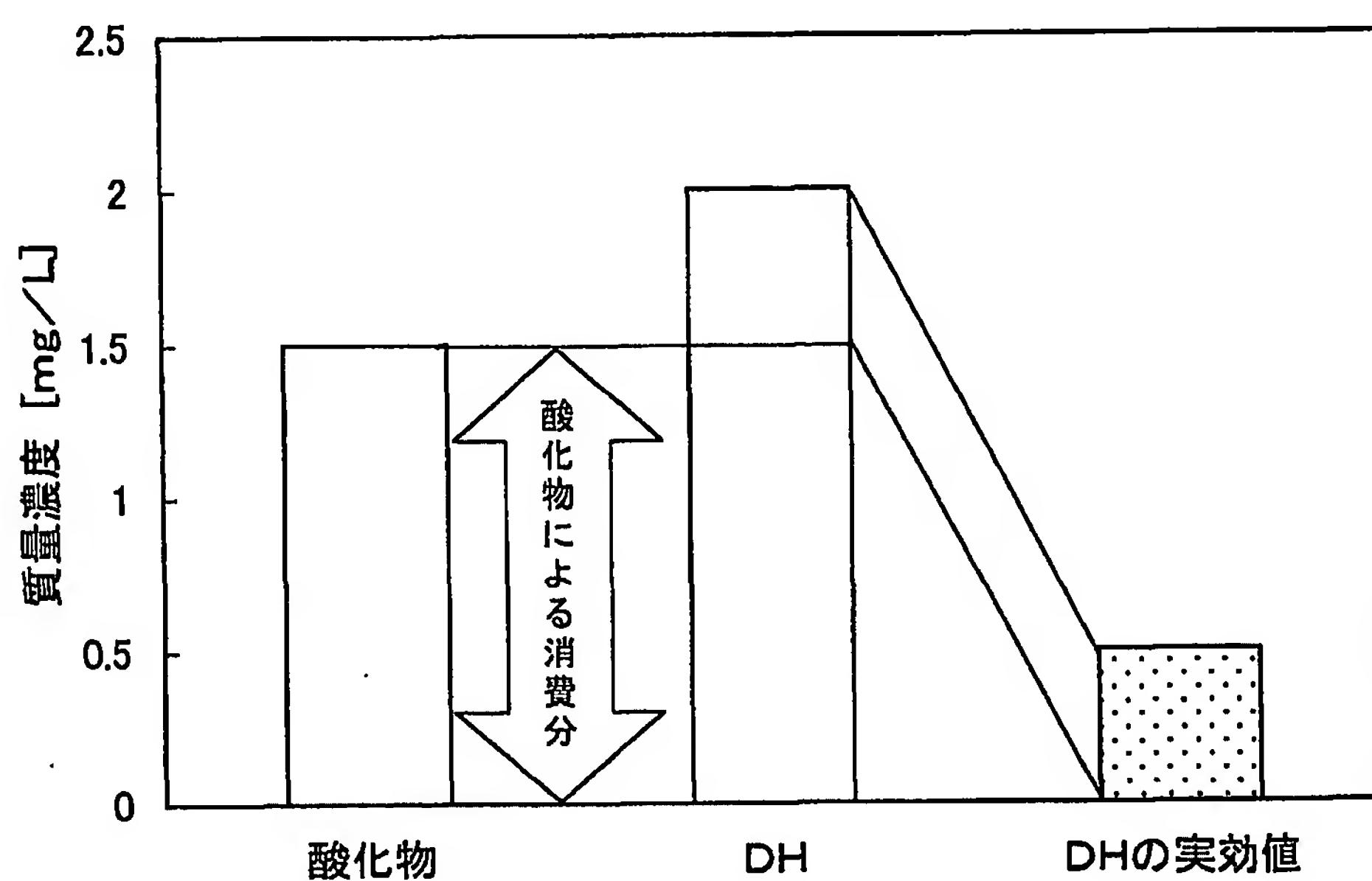
FIG.21



WO 03/002466

PCT/JP02/06560

FIG.22

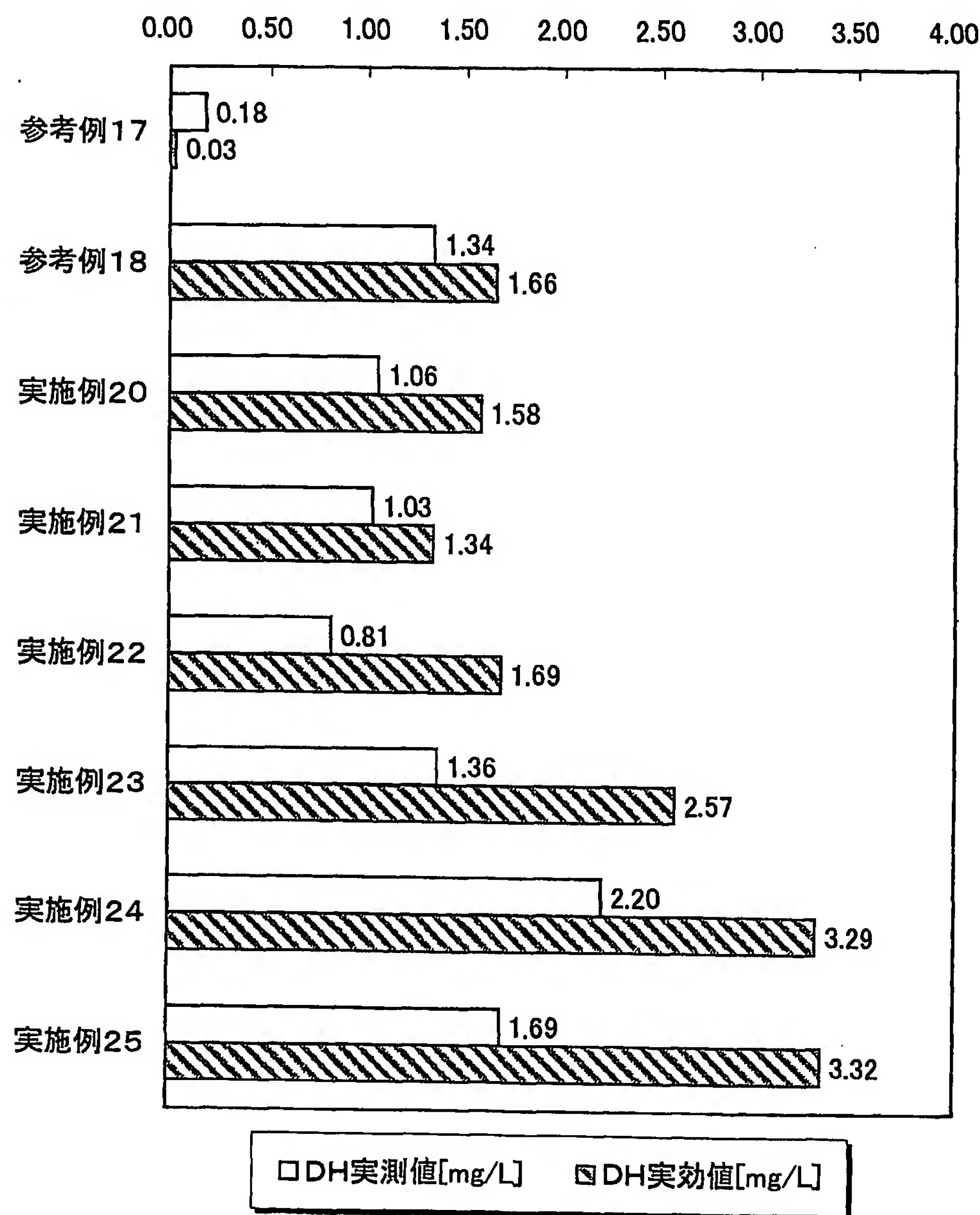


WO 03/002466

PCT/JP02/06560

FIG.23

溶存水素濃度DH(mg/L)



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/06560

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl' C02F1/70, C02F1/30, C02F1/32, B08B3/08, H01L21/304,
C12N9/08

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl' C02F1/00, A61K31/28, B01J23/38, B08B3/08, H01L21/304,
C12N9/08

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1926-1996	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2002
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2002	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2002

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 4-058528 A (Ebara Research Co., Ltd.), 25 February, 1992 (25.02.92), Claims; page 2, upper right column, line 15 to lower left column, line 11; example 1 (Family: none)	1-4, 7-9, 19, 20
Y	JP 10-225664 A (Organo Corp.), 25 August, 1998 (25.08.98), Claims; page 5, Par. No. [0021]; Fig. 1 (Family: none)	2
X	JP 2001-070944 A (Matsushita Electric Works, Ltd.), 21 March, 2001 (21.03.01), Claims; page 2, Par. No. [0005] to page 3, Par. No. [0007]; page 8, Par. No. [0058] to page 9, Par. No. [0061]; Page 10, Par. Nos. [0066] to [0070] (Family: none)	1-4, 5, 9, 10, 12-16, 21

Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

"A"	Special categories of cited documents: document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T"	later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E"	earlier document but published on or after the international filing date	"X"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L"	document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O"	document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&"	document member of the same patent family
"P"	document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		

Date of the actual completion of the international search 27 September, 2002 (27.09.02)	Date of mailing of the international search report 15 October, 2002 (15.10.02)
--	---

Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/06560

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 5-317867 A (Organo Corp.), 03 December, 1993 (03.12.93), Claims; page 2, Par. No. [0008]; page 3, Par. No. [0011] (Family: none)	1-4, 9, 5, 10, 12-15, 17, 21
Y	JP 57-081836 A (Hitachi, Ltd.), 22 May, 1982 (22.05.82), Page 2, upper left column, line 5 to lower left column, line 9 (Family: none)	5, 10, 12-15, 17, 21
X	JP 7-184667 A (Fuji Oil Co., Ltd.), 25 July, 1995 (25.07.95), Full text (Family: none)	1-6, 9, 10-16, 18
X	JP 2001-010954 A (Otsuka Sangyo Kabushiki Kaisha), 16 January, 2001 (16.01.01), Claims; page 3, Par. No. [0006] to page 6, Par. No. [0008] (Family: none)	1, 3-5, 9, 10, 12, 14, 15, 17, 21
A	US 5403450 A (Mobitec Molecular Biologische Technologie GmbH.), 04 April, 1995 (04.04.95), Claims & JP 6-500258 A & WO 92/5117 A1 & EP 550455 A1 & DE 4030448 A1	1-6, 9-16, 18-21

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP02/06560

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC））

Int. Cl' C02F1/70, C02F1/30, C02F1/32, B08B3/08, H01L21/304,
C12N9/08

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC））

Int. Cl' C02F1/00, A61K31/28, B01J23/38, B08B3/08,
H01L21/304, C12N9/08

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1926-1996
日本国公開実用新案公報	1971-2002
日本国登録実用新案公報	1994-2002
日本国実用新案登録公報	1996-2002

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	JP 4-058528 A (株式会社荏原総合研究所), 1992. 02. 25, 特許請求の範囲, 第2頁右上欄第15行- 左下欄第11行, 実施例1, (ファミリーなし)	1-4, 7-9, 19, 20 2
Y	JP 10-225664 A (オルガノ株式会社), 1998. 08. 25, 特許請求の範囲, 第5頁【0021】, 図1, (ファミリーなし)	2

 C欄の続きにも文献が列挙されている。 パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
 「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日 27.09.02	国際調査報告の発送日 15.10.02
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官（権限のある職員） 小久保 勝伊 電話番号 03-3581-1101 内線 6429 4D 9831 

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP02/06560

C (続き) . 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	JP 2001-070944 A (松下電工株式会社), 2001. 03. 21, 特許請求の範囲, 第2頁【0005】—第 3頁【0007】 , 第8頁【0058】—第9頁【0061】 , 第10頁【0066】—【0070】 , (ファミリーなし)	1-4, 5, 9, 10, 12-16, 21
X	JP 5-317867 A (オルガノ株式会社), 1993. 12. 03, 特許請求の範囲, 第2頁【0008】 , 第3頁【0011】 , (ファミリーなし)	1-4, 9 5, 10, 12-15, 17, 21
Y	JP 57-081836 A (株式会社日立製作所), 1982. 05. 22, 第2頁左上欄第5行—左下欄第9行, (ファミリーなし)	5, 10, 12-15, 17, 21
X	JP 7-184667 A (不二製油株式会社), 1995. 07. 25, 全文, (ファミリーなし)	1-6, 9, 10-16, 18
X	JP 2001-010954 A (大塚産業株式会社), 2001. 01. 16, 特許請求の範囲, 第3頁【0006】—第 6頁【0008】 , (ファミリーなし)	1, 3-5, 9, 10, 12, 14, 15, 17, 21
A	US 5403450 A (MOBITEC MOLECULAR BIOLOGISCHE TECHNO LOGIE GMBH,) , 1995. 04. 04, 特許請求の範囲 & JP 6-500258 A & WO 92/5117 A1 & EP 550455 A1 & DE 4030448 A1	1-6, 9-16, 18-21